

Aus dem Institut für Tieranatomie
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Tieranatomie (I), insbesondere
Systematische und Topographisch-klinische Anatomie
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. H.-G. Liebich

Angefertigt unter der Leitung von
PD Dr. Sven Reese

Die Struktur der Blut-Hirn- und der Blut-Liquor-Schranke - eine Literaturstudie -

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Peter Uwe Brenner
aus
Bad Säckingen

München 2006

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer
Referent: Priv.-Doz. Dr. S. Reese
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Ammer

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	GESCHICHTLICHER HINTERGRUND ZUR ENTDECKUNG DER BLUT-HIRN-SCHRANKE	2
III.	MIKROSKOPISCHE STRUKTUR DER BLUT-HIRN- UND BLUT-LIQUOR-SCHRANKE	9
A.	Mikroskopische Struktur der Blut-Hirn-Schranke.....	11
1.	Die Blutkapillaren.....	11
2.	Astrozyten.....	22
3.	Perizyten	25
B.	Mikroskopische Struktur der Blut-Liquor-Schranke.....	40
1.	Äußerer Liquorraum mit Meningen.....	41
2.	Innere Liquorräume	45
IV.	MOLEKULARE STRUKTUR DER BLUT-HIRN- UND BLUT-LIQUOR-SCHRANKE	54
A.	Molekulare Struktur der Tight junctions.....	54
1.	Tight junction assoziierte Proteine.....	55
2.	Zytosolische Proteine.....	61
a)	Membran assoziierte Guanylat Kinasen (MAGUK).....	61
b)	Plaueproteine die nicht der MAGUK Gruppe zugerechnet werden	62
c)	Weitere zytoplasmatische Proteine, die mit TJ assoziiert sind.....	63
B.	Molekulare Struktur der Adherens junctions.....	64
a)	Cadherin.....	65
b)	Catenin und andere Bindungspartner von Cadherin.....	65
c)	PECAM.....	65

C.	Transportmechanismen an der Blut-Hirn-Schranke	65
1.	Allgemeiner Teil über die Mechanismen des Stofftransportes an der Blut-Hirn-Schranke.....	65
2.	Transportproteine für organische, hydrophile Kationen:	68
D.	Spezieller Teil der Transportsysteme an der Blut-Hirn-Schranke	70
1.	Glucosetransporter bzw. Hexosentransporter	70
2.	Monocarboxylat Transporter	79
E.	Aminosäuren Transport an der Blut-Hirn-Schranke	80
1.	Der Transport von neutralen Aminosäuren:.....	81
2.	Transport von Kationischen Aminosäuren	85
a)	Kationische Aminosäure spezifische Transporter der CAT Familie.....	86
b)	Organische Anionen Transporter Proteine	87
c)	ABC Transporter.....	88
3.	Transportproteine, die an der metabolischen Blut-Hirn-Schranke beteiligt sind	90
4.	Multidrug-Resistenz-Proteine	91
V.	BESONDERHEITEN IN DER STRUKTUR DER BHS UND BLS WÄHREND DER EMBRYONALEN UND FETALEN PHASE	93
VI.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS UND GLOSSAR	100
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	107
VIII.	SUMMARY	108
IX.	LITERATURVERZEICHNIS	109

I. Einleitung

Es ist Aufgabe der Blut-Hirn-Schranke (BHS) sowie der Blut-Liquor-Schranke (BLS) und der beteiligten Strukturen, sowohl den Schutz des Gehirns vor bestimmten Stoffen des Blutes, als auch die ausreichende Versorgung des Gehirns mit Sauerstoff, Glucose als Energieträger und anderen Nährstoffen, sowie Aminosäuren zu gewährleisten. Zudem sind spezifische Konzentrationen von Ionen, Hormonen und Transmittern im Gehirn einzuhalten. Die Homöostase des Gehirns darf sich nur in sehr engen Grenzen bewegen. Bei aller Abschottung muss jedoch sichergestellt sein, dass der hohe Energie- und Sauerstoffbedarf des Gehirns gedeckt ist.

Störungen der Integrität der Blut-Hirn- wie auch der Blut-Liquor-Schranke sind daher von erheblicher klinischer Bedeutung. Gleichzeitig begrenzt diese aber auch die pharmakologischen Möglichkeiten der Therapie von Krankheiten des ZNS erheblich.

In den letzten Jahrzehnten hat das Wissen über die Ultrastruktur und insbesondere die molekulare Struktur der Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke erhebliche Fortschritte gemacht. Ziel dieser Literaturstudie ist es, einen Überblick über die komplexe Struktur dieser Barrieren zu geben, wobei ein besonderer Schwerpunkt auf funktionelle Zusammenhänge gelegt werden soll.

II. Geschichtlicher Hintergrund zur Entdeckung der Blut-Hirn-Schranke

Allgemein wird Paul Ehrlich (Abb. 1), einer der Pioniere der Chemotherapie, als Entdecker der Blut-Hirn-Schranke (BHS) angesehen, wobei hier von den meisten Wissenschaftlern seine Veröffentlichung von 1885 herangezogen wird. Andere Autoren (Engelhardt u. Risau, 1995) sehen eher die 1902 von Ehrlich veröffentlichte Abhandlung als „Geburtsstunde“ der Blut-Hirn-Schranke an.

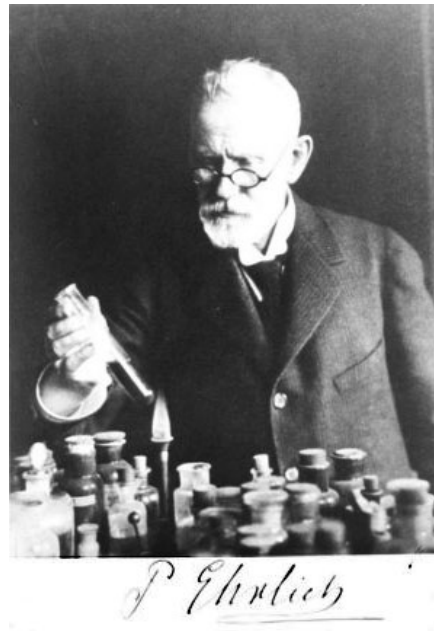


Abb. 1 Paul Ehrlich im Labor (aus der Internet Seite des Paul Ehrlich Institutes www.pei.de vom 20.01.05).

Bei den Versuchen, deren Ergebnisse Ehrlich 1885 veröffentlichte, injizierte er verschiedene Farbstoffe in der Peripherie lebender Tiere. Bei einigen Farbstoffen stellte er bei nachfolgenden histologischen Untersuchungen fest, dass die meisten Organe, im Gegensatz zum Gehirn, vom Farbstoff durchdrungen waren. Ehrlich nahm damals an, dass die Korngröße des Stoffes dafür verantwortlich sei, ob eine Substanz ins Gehirn gelangen könne, oder nicht. Er schloss also aufgrund seiner Untersuchungen: „dass die die Aufnahme beherrschenden Flächen am Gehirn [...]

feinstporöse Beschaffenheit besitzen“ und von Substanzen mit groben Korn nicht erreicht werden können, während in andere Gewebe wie Leber und Niere diese grobkörnigen Stoffe gelangen. Er hielt es aber auch für möglich, dass „*das natürliche Elektionsvermögen der Zellen modificirt worden sei*“. Als ein Grund für die nicht sichtbare Anfärbung des Gehirns mit Methylenblau machte Ehrlich (1886) eine „*alkalische Reaction*“ verantwortlich die einen „*Theil des aufgenommenen Farbstoffes in die rothgefärbte Base*“ umsetzt. Bradbury (1995) zeigt auf, dass Ehrlich (1902) der Meinung war, dass die Affinität des Blutes darüber entscheidet, ob ein Farbstoff das Gehirn anfärbt oder nicht, wie ein Auszug aus dem Originaltext zeigt:

„basische Farbstoffe, welche vom Blut durch keine chemischen Affinitäten zurückgehalten werden, vom Gehirn mit Vorliebe aufgenommen werden, während Farbsäuren [] das entgegengesetzte Verhalten zeigen“ (Ehrlich, 1902).

Ehrlich weist aber richtigerweise darauf hin, „*dass, ähnlich wie das Gehirn, sich auch das Fettgewebe verhält, indem ein großer Theil der Stoffe, die vom Gehirn aufgenommen werden, auch vom Fettgewebe gespeichert werden.*“ Wobei er auch Arbeiten von Pohl (1881), erwähnt. Dieser wies nach, dass die Bindung von Chloroform an die Erythrozyten durch deren Gehalt an „*Cholestearin und Lecithin, die Chloroform ausschütteln, zurückzuführen*“ ist. Pohl nahm dies auch für die fettähnlichen Stoffe des Gehirns an, „*ähnlich wie ich [Ehrlich] dies für die Farbstoffe und Alkaloide gethan habe*“. Also, dass die Lipidlöslichkeit wichtig dafür sei, ob ein Stoff ins ZNS gelangen könne oder nicht. Diese wichtige Beobachtung blieb über lange Zeit unbeachtet, geriet in Vergessenheit und wurde erst von Krogh (1946) wieder aufgenommen. Andere Wissenschaftler (Biedl und Kraus, 1898) experimentierten zu jener Zeit ebenfalls mit Stoffen, denen gewisse pharmakologische Wirkungen zugeschrieben wurden. Effekte auf das Gehirn waren mit diesen Mitteln aber nur zu erzielen, wenn sie direkt in den Liquor injiziert wurden; Injektionen in die Blutbahn waren wirkungslos (Bradbury, 1995).

Der Erste, der für diese Forschungsergebnisse die Gehirnkapillaren verantwortlich machte, war Lewandowsky (1900). Er propagierte, „*dass die Capillarwand den Übertritt bestimmter Stoffe wie Natriumferrocyanat verhindere*“, also spezielle Eigenschaften der Gehirnkapillaren den Übertritt bestimmter Stoffe (Spatz, 1933, Davson et al.,

1993) vom Blut ins Gehirn unterbinden. Lewandowsky machte dafür nicht unbedingt nur physikalische Eigenschaften, wie die Molekülgröße verantwortlich, sondern auch die chemischen Eigenschaften der Stoffe. Damit formulierte er als erster ein klares Konzept einer möglichen Funktionsweise der Blut-Hirn-Schranke (Davson et al., 1993). Beweisen konnte er dies zu jenem Zeitpunkt jedoch nicht.



Abb. 2 Portraitfoto von Edwin Goldman

(aus der Internet Seite des Kongresse: Vth International Conference on Cerebral Vascular Biology (CVB 2003)

<http://pharmacy.ama.ttuhsc.edu/Users/~smith/>)

Edwin Goldmann, ein Schüler Ehrlichs (Abb. 2), zeigte 1909 mit seinen Experimenten, gemeinhin als „erstes Experiment“ bezeichnet, dass in die Venen injiziertes Trypanblau alle Organe färbt, das Gehirn und Liquor aber frei von Farbstoff bleibt (Goldmann, 1909) (Abb. 3, 4).

Desweiteren bewies er mit seinem Versuchen an Hunden und Kaninchen (Goldmann, 1913), dass in die cerebrospinale Flüssigkeit injiziertes Trypanblau das Gehirn färbt, nicht jedoch ins Blut oder andere Organe gelangen kann (Abb. 3).

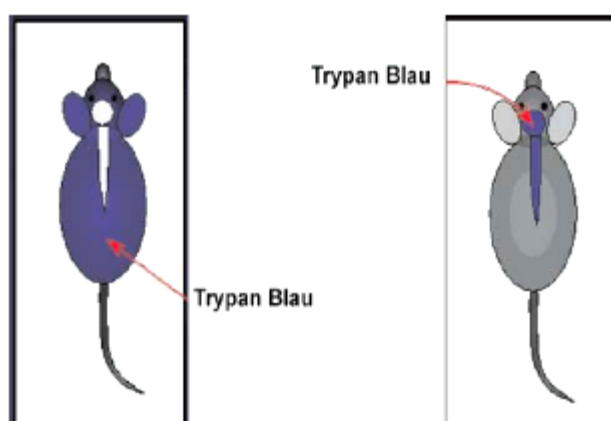


Abb. 3 Goldmanns Farbexperimente (von 1913): Intravenöse Gabe von Trypanblau führt zur Färbung von Körpergewebe, eine intracerebrale Injektion nur zu einer ZNS- Anfärbung (aus der Internetseite www.acrossbarriers.de der Across Barriers GmbH vom 17.01.05).

Mit diesem wichtigen „zweiten Experiment“ konnte er zeigen, dass es wirklich eine Barriere zwischen dem Blut und dem Gewebe des Gehirnes gibt und nicht etwa die

fehlende Affinität des Hirnes zu den Farbstoffen verantwortlich für das Fehlen des Markers im Gehirn ist (Davson et al., 1993). Goldmann vertrat die Theorie, dass die Gliazellen eine limitierende Barriere bilden, sie sollte die Ursache für diese Effekte sein (Bradbury, 1995). Da sich beim ersten Experiment der Plexus choroideus färbte, war Goldman der Meinung, dass der Sitz der Schranke dort zu suchen sei (Spatz, 1933). Zu dem Schluss, dass man zwischen einer Blut-Hirn-Schranke und eine Blut-Liquor-Schranke unterscheiden müsse, kamen die Forscher Walter (1933) und Spatz (1933) unabhängig voneinander. Spatz (1933) hatte Goldmans Versuche wiederholt und erweitert und dadurch war für ihn offensichtlich klar, „*die Schranke zwischen Blut und Gehirn ist in der Innenhaut der cerebralen Gefäße, die Schranke zwischen Blut und Liquor in der Innenhaut der Gefäße des Plexus und der weichen Häute zu suchen*“.



Abb. 4 Eine Autoradiographie als modernes Gegenstück zu den Färbungsversuchen der frühen Forscher im Bereich der Blut-Hirn-Schranke, wie Ehrlich und Goldman. Das sehr helle, nicht mit dem Markierungsstoff belastete Gewebe des ZNS ist gut zu erkennen. Im Gegensatz dazu kann man dunkle Gewebebereiche an anderen Körperstellen erkennen, die den Marker aufgenommen haben (aus Padridge, 1986).

Walter (1933) vertrat zudem die Ansicht, dass man im Gehirn praktisch zwischen einer Blut-Liquor-Schranke, einer Hirn-Liquor-Schranke, sowie zusätzlich einer Blut-Hirn-Schranke unterscheiden müsse (Abb. 5). Wobei seiner Meinung nach Blut-Liquor-Schranke und Liquor-Hirn-Schranke hintereinandergeschaltet sind und die Blut-Hirnschranke parallel dazu fungiert (Abb. 5). Auch verteidigte er vehement die Ansicht, dass das Blut die Versorgung des Gehirns mit Nährstoffen übernimmt und nicht etwa der Liquor wie manche Forscher zu jener Zeit noch propagierten (Walter, 1933).

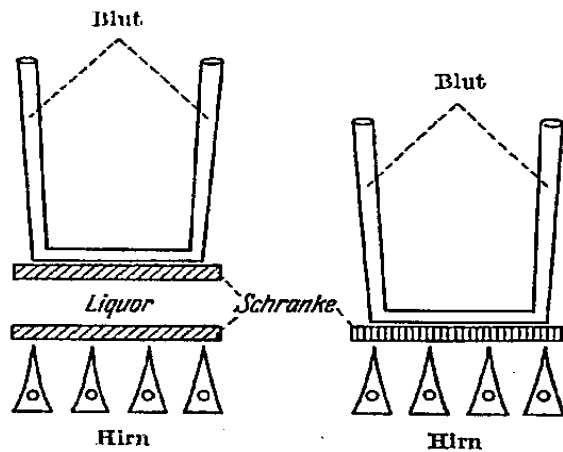


Abb. 5 Grafik von Walter (1933), in der er seinen Standpunkt über die Anordnung der verschiedenen Schranken, darlegt.

Lena Stern und ihr Schüler Gautier waren die ersten, die systematisch den Transport von verschiedenen Stoffen vom Blut in die Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) untersuchten (Stern und Gautier, 1921, 1922). Sie zeigten, dass bestimmte Stoffe, wie Bromide und Strychnin, im Gegensatz zu anderen Substanzen, vom Blut in den Liquor gelangen können (Davson et al., 1993). Durch den Vergleich mit der Wirkung bei intravenösen Injektionen schlossen die Experimentatoren, dass ein Stoff, um in das Gehirn zu gelangen, den Weg über die CSF nehmen müsse und der Austausch sämtlicher Stoffe über den Liquor geschähe (Walter, 1933, Davson et al., 1993). Außerdem glaubten sie, dass die, von ihnen als „barrière hémato-encéphalique“ bezeichnete Schranke, nur im Plexus choroideus beheimatet ist (Walter, 1933), also sich nur dort eine Barriere ausbildet, die den Stoffaustausch reguliert. In dieser Intension war die Theorie von Stern und Gautier, wie oben schon erwähnt, nicht haltbar (Davson et al., 1993).

In einer von Krogh (1946) veröffentlichten wissenschaftlichen Abhandlung vertrat er die Meinung, dass Stoffe, die die Zellmembranen normalerweise nicht penetrieren können, auch nicht aus den Gefäßen des ZNS ins Gehirn gelangen können (Davson et al., 1993); dass also die Lipidlöslichkeit ausschlaggebend dafür sei, ob ein Stoff ins Gehirn gelangen könne und nicht die elektrische Ladung, wie zu jener Zeit geglaubt wurde. Dies verdeutlicht ein Auszug aus seiner Veröffentlichung von 1946:

„On the whole the permeability of the vessels in the CNS is very reminiscent of that generally found or assumed for the cellular membrane, and it would appear that in the search for drugs which act on this system one should be guided mainly by studies in their solubility in lipoid and not as very generally supposed, of their electrical charge.“ Des Weiteren hielt er sekretorische Funktionen der Gehirngefäße

für möglich. Er war nicht etwa durch eigene Forschung zu diesem Ergebnis gelangt, sondern durch sorgfältiges Studium der Literatur und die Verknüpfung der unterschiedlichen Untersuchungsbefunde aus den letzten 50 Jahren (Bradbury, 1995).

Zu einem Bruch mit den vorangegangenen Ansichten über die Blut-Hirn-Schranke kam es mit Beginn der elektronenmikroskopischen Untersuchungen. So wurde entdeckt, dass es im Gehirn offenbar sehr wenig Extrazellularraum gibt (Wycoff und Young 1956; Schultz et al., 1957). Bei EM Aufnahmen, bei denen Osmium als Marker verwendet wurde, sah man Gliazellen und Neurone so dicht gepackt, dass daraus geschlossen wurde, der Extrazellularraum sei so klein, dass die Konzentration von Trypanblau und anderen sauren Farbstoffen, die das Gefäß eigentlich verlassen könnten, zu gering sei, um sie mit dem Lichtmikroskop wahrnehmen zu können (Davson et al., 1993). Die großen, im Lichtmikroskop sichtbaren Räume zwischen den Zellen waren in den Bildern des Elektronenmikroskops mit Neuropil gefüllt. Dies veranlasste Maynard et al. (1957) dazu, die Blut-Hirn-Schranke als Illusion abzutun (Bradbury, 1995). Viele Wissenschaftler machten sich diese Ansicht zu Eigen, obwohl damit die Ergebnisse der früheren Wissenschaftler, wie zum Beispiel Goldmann, nicht zu erklären waren (Bradbury, 1995; Davson et al., 1993). Davson und Spaziani (1959) waren von den neuen Theorien nicht zu überzeugen und veröffentlichten 1959 die Ergebnisse ihrer Forschung. Sie benutzten radioaktive Extrazellulärmarker, wie Jodide oder Succrose und schlossen aufgrund ihrer in vitro Versuche auf einen Extrazellularraum von 15 bis 20 % im Hirngewebe (Davson et al., 1993; Bradbury, 1995).

Den ersten visuellen Beweis dafür, dass das Kapillarendothel verantwortlich für die wirkungsvolle Trennung zwischen Blut und cerebralen Gewebe ist, zeigten die Experimente von Reese und Karnovsky (1967), sowie Brightman und Reese (1969). Sie zeigten mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen, dass Meerrettichperoxidase, ein 40 KDa großes Protein (Engelhardt, 2003), oder kolloidales Lanthanumhydroxid i.v. injiziert, nicht die Endothelgrenze im Gehirn überschreiten konnten. Dies wurde durch die, die Endothelzellen verbindenden Strukturen, Tight junctions (TJ) genannt, unterbunden, die den parazellulären Austausch verhindern (Abb. 7). Sofort nach Injektion in die cerebrospinale Flüssigkeit im Gehirn verteilten sich diese Marker im Hirngewebe und konnten sogar bis in die perikapillären Regionen der Kapillaren vordringen, ohne diese Barriere zu überschreiten (Abb. 6, 7). Die Existenz der Blut-

Hirn-Schranke und ihre Lokalisation im Kapillarendothel waren hiermit bewiesen (Reese und Karnovsky, 1967; Brightman und Reese, 1969), ebenso wie die der Blut-Liquor-Schranke und ihre Lokalisation im Epithel der Plexus choroidei (Brightman und Reese, 1969).

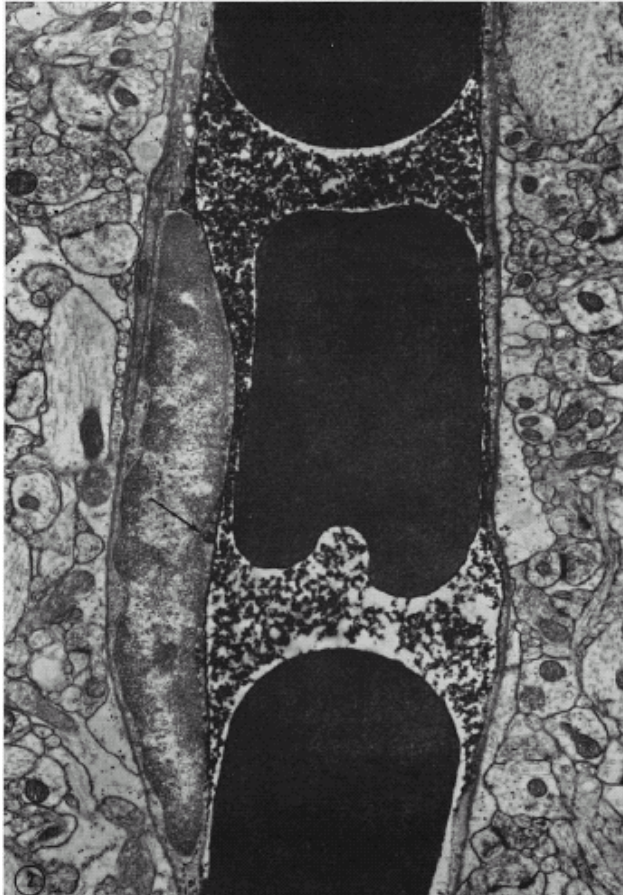


Abb. 6 Diese Aufnahme ist eine der elektronenmikroskopischen Bilder mit denen Reese und Karnovsky das erste mal den Beweis für eine in den Kapillarendothelzellen befindliche Blut-Hirn-Schranke erbringen konnten. Die Peroxidase wurde intravenös injiziert und ist im Lumen des Gefäßes als dichtes Reaktionsprodukt zwischen den sehr stark gefärbten Erythrozyten zu erkennen. Gut erkennbar ist, dass außerhalb des Gefäßes keine Peroxidase zu finden ist, da sie das Endothel nicht überwinden kann. x 20000 (aus Reese und Karnovsky, 1967)

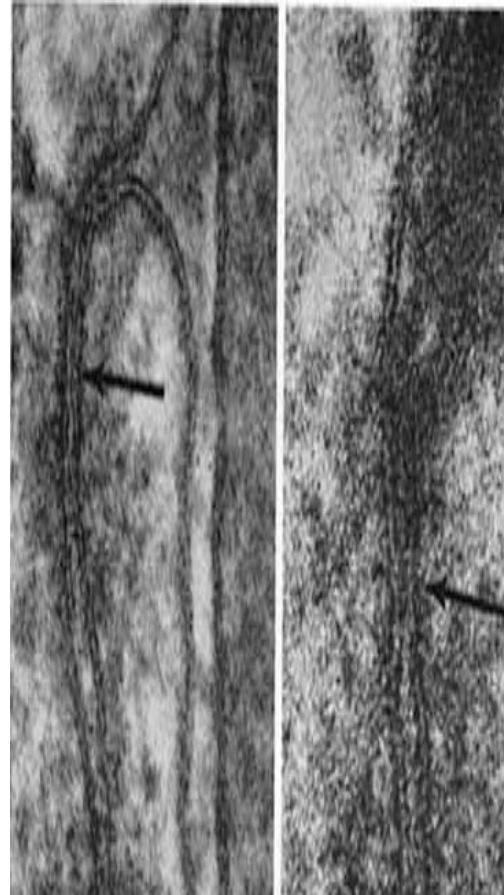


Abb. 7 Mit diesen zwei Aufnahmen konnte bewiesen werden, dass Tight junction (Pfeile) die benachbarten Endothelzellen miteinander verbinden. Der Grund dafür ist, dass keine Peroxidase aus dem Gefäß gelangen kann. Vergrößerung: rechts, x 110,000. links, x 210,000. (aus Reese und Karnovsky, 1967)

III. Mikroskopische Struktur der Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke

Im Laufe der Evolution hat sich das Säugetiergehirn zu einem hochspezialisierten Organ entwickelt. Die Funktion ist aber an die Erhaltung eines bestimmten Milieus gebunden. So muss das Gehirn von einigen im Blut befindlichen Substanzen geschützt werden. Ein bestimmter pH-Wert ist ebenfalls einzuhalten und auch die Elektrolytkonzentrationen müssen stimmen (Lohmann, 2003). Es ist Aufgabe der Blut-Hirn-Schranke (BHS), beziehungsweise der Blut-Liquor-Schranke (BLS) und der beteiligten Strukturen, sowohl den Schutz vor bestimmten Stoffen des Blutes, als auch die ausreichende Versorgung des Gehirns mit Sauerstoff, Glucose als Energieträger und anderen Nährstoffen, sowie Aminosäuren zu gewährleisten. Die spezifischen Konzentrationen von Ionen, Hormonen und Transmittern im Gehirn sind einzuhalten (Haseloff et al., 2003). Die Homöostase des Gehirns darf sich nur in sehr engen Grenzen bewegen. Bei aller Abschottung muss jedoch gewährleistet sein, dass der hohe Energie- und Sauerstoffbedarf des Gehirns gedeckt ist. Was keine leichte Aufgabe ist, da das Gehirn des Menschen mit etwa 1300 g, ungefähr 2 % des Körpergewichtes, ca. 20 % der vom Körper zur Verfügung stehenden Gesamtenergie für sich in Anspruch nimmt. Das entspricht 75 mg Glucose und 50 ml Sauerstoff pro Minute (Lohmann, 2003), welches in einem Blutvolumen von 750 ml/min gelöst ist (Petrides, 1998).

Damit eine Substanz aus dem Blut ins Gehirn gelangen kann, muss sie entweder die Blut-Liquor- oder die Blut-Hirn-Schranke überwinden (Greig, 1992; Spector, 2000).

Sitz der BHS sind primär die Endothelien der Gehirnkapillaren (BCEC – brain capillar endothel cells), die – lückenlos verbunden über Tight junctions - eine physikalische Barriere bilden. Unterstützt wird diese Barriere in zweiter Reihe durch einen dichten Besatz der Endothelien mit Perizyten und Astrozyten, deren Zusammenspiel mit den Endothelzellen wesentlich ist für die Reglementierung des Substrataustausches über die BHS (Padrige, 2003).

Neben dem direkten Substrataustausch zwischen Blut und Extrazellularraum des Gehirns erfolgt ein Stoffaustausch über den mit Liquor cerebrospinalis gefüllten Subarachnoidalraum und die Binnenräume des Gehirns (Greig, 1992). Hierzu muss sowohl die Blut-Liquor-Schranke als auch die Liquor-Hirn-Schranke überwunden werden. An der Bildung dieser Schranken sind zahlreiche Strukturen wie die Meningen, das Ependym und die Epithelien des Plexus choroideus beteiligt (Abb. 8).

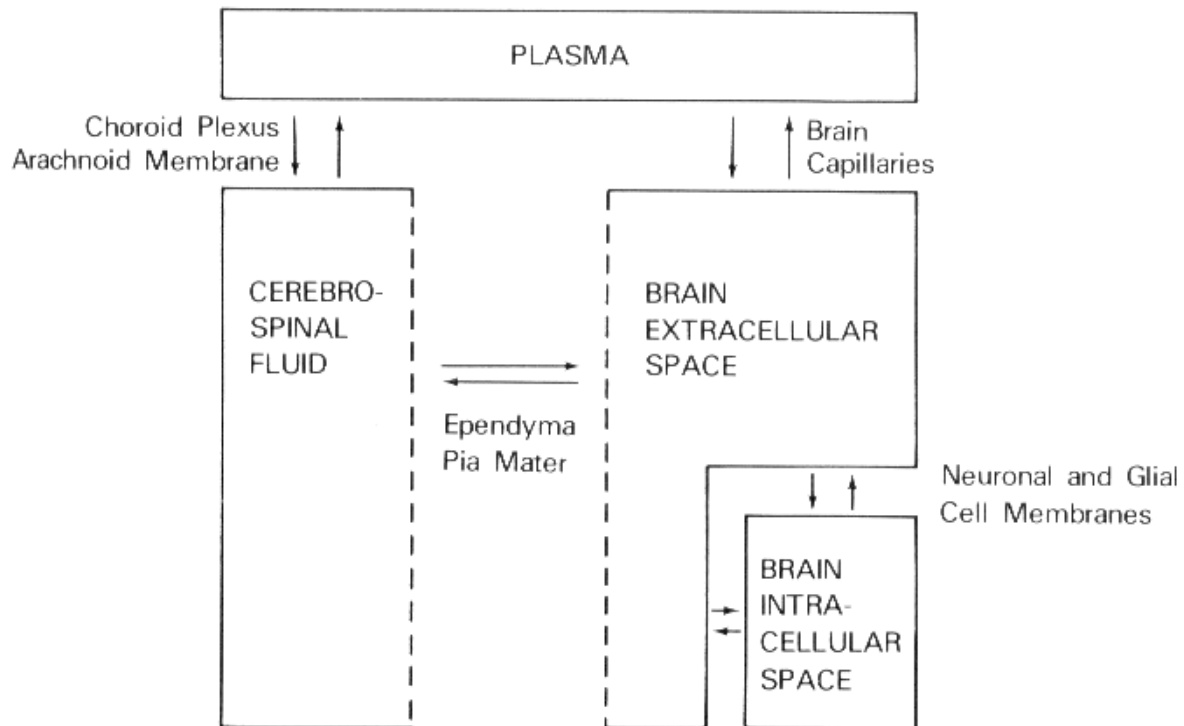


Abb. 8 Grafik der prinzipiellen Barrieren bzw. Substanztransportwegen zwischen den unterschiedlichen Kompartimenten im Gehirn (aus Greig, 1992).

Die physikalische Barriere Blut-Hirn- oder Blut-Liquor-Schranke bildet für viele Stoffe keine absolute Grenze. Hier kommt als Zweites die metabolische Barriere zum Einsatz, deren wichtigste Mechanismen im Kapitel „Molekulare Struktur der Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke“ beschrieben werden.

Die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke bildet für viele für das Gehirn essentielle Stoffe ebenfalls eine absolute Barriere, deren Überwindung über verschiedenste Transportmechanismen gewährleistet werden muss. Eine Beschreibung der wichtigsten Transportwege erfolgt ebenfalls im Kapitel „Molekulare Struktur der Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke“.

A. Mikroskopische Struktur der Blut-Hirn-Schranke

1. Die Blutkapillaren

Um die Struktur der Blut-Hirn-Schranke (BHS) beziehungsweise der Blut-Liquor-Schranke (BLS) zu verdeutlichen, soll erst einmal die Anatomie der Gefäße, die einen wesentlichen Baustein der Barriere bilden, beschrieben werden.

Das Kapillarsystem ist funktionell das System, das dem Austausch verschiedener Stoffe mit dem Gewebe dient. Bei den Kapillaren wird zwischen Prä-, Mitt- und Postkapillaren unterschieden (Abb. 9). Wobei nur Mittkapillaren als „echte“ Kapillaren angesehen werden (Drenckhahn, 2004; Zimmermann, 1923).

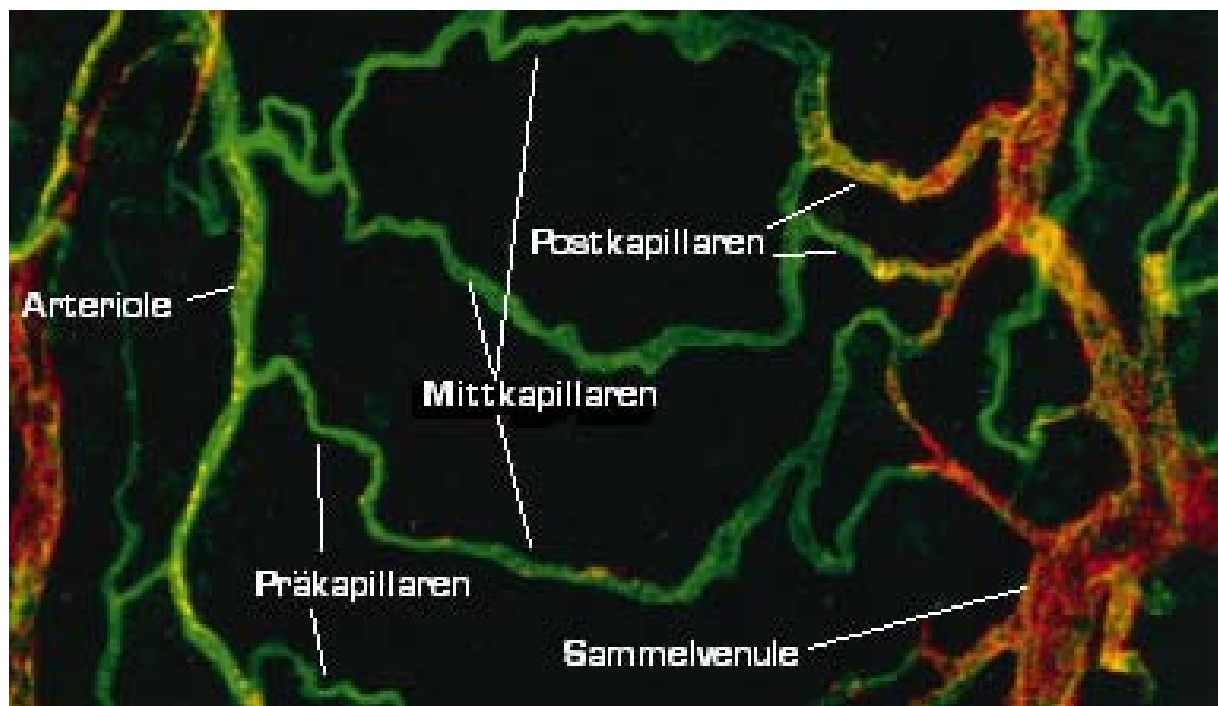


Abb. 9 Aufbau des Gefäßsystems in den Gebieten der Mikrozirkulation, hier am Beispiel der Trachealschleimhaut einer Ratte, eine Fluoreszenzaufnahme.
(aus Thurston et al., 1998).

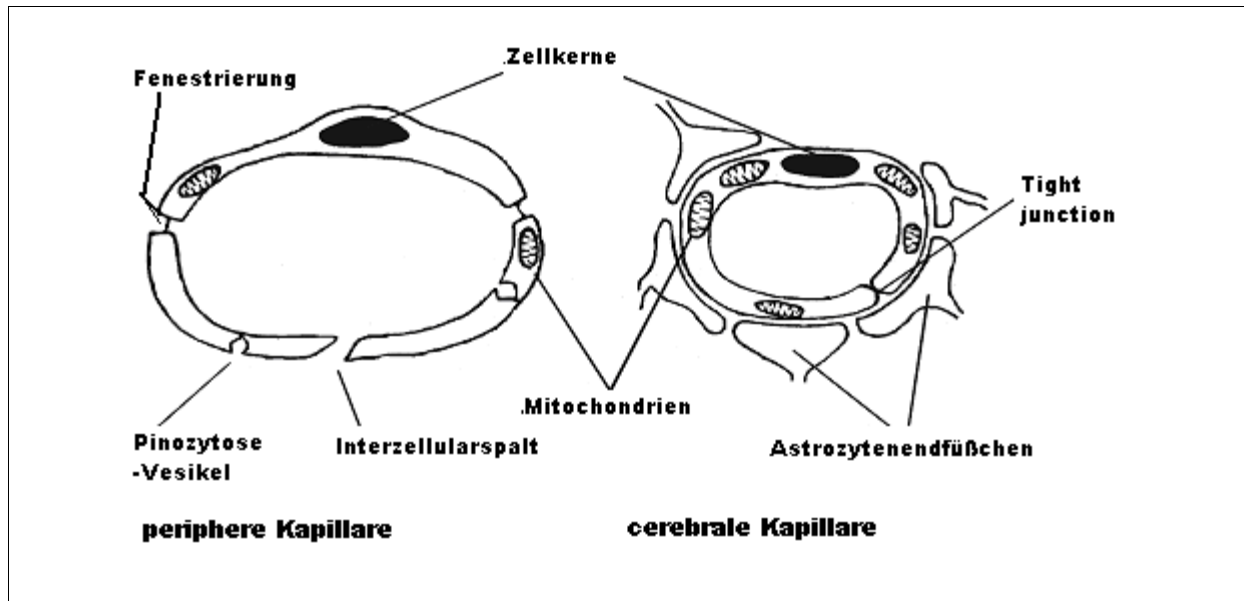


Abb. 10 Schematischer Vergleich einer gefensterten peripheren Kapillare und einer dichten Gehirnkapillare (aus Reed, 1980).

Die Kapillaren besitzen eine Lumenweite von 6-12 μm . Die Wand besteht aus einem dünnen einschichtigen Epithel, Endothel und einem feinen Geflecht von retikulären Fasern und eingestreuten Mikrofibrillenbündeln. Die Basallamina besitzt eine Dicke von 20 nm (Welsch, 2003). Die den Endothelzellen aufliegenden Perizyten, stehen oft durch Adherens junctions mit diesen in Verbindung. Die Kapillaren des Zentralnervensystems sind um den Faktor 50 bis 100 besser abgedichtet, als diejenigen in der Peripherie (Abbott, 2002) (Abb. 10, 11, 12). Allerdings ist die Morphologie der BHS und deren beteiligten Komponenten altersabhängigen Veränderungen unterworfen (Alba et al., 2004).

Da das Gehirn gut mit Nährstoffen versorgt werden muß, liegen die Kapillaren sehr dicht und der Abstand zwischen ihnen beträgt etwa nur 40 μm (Doverney et al., 1983) (Abb. 13). Im Gegensatz zu den meisten Endothelien im Körper sind die Kapillarendothelien im Gehirn aus einem Monolayer aufgebaut, der keine Lücken aufweist (Reese und Karnovsky, 1967; Brightman und Reese, 1969; Jägerhuber, 2003). Die Kapillaren sind also unfenestriert und werden auch als dichte Kapillaren bezeichnet (Haseloff et al., 2005) (Abb. 10, 11).

Die Endothelzellen werden von einer zusammenhängenden Basalmembran umfaßt, (Fenstermacher et al., 2001), welche zwischen 50 und 150 nm dick ist und hauptsächlich aus Kollagen IV, Laminin, Fibronectin und Proteoglykanen besteht (Dermitzel und Krause, 1991).

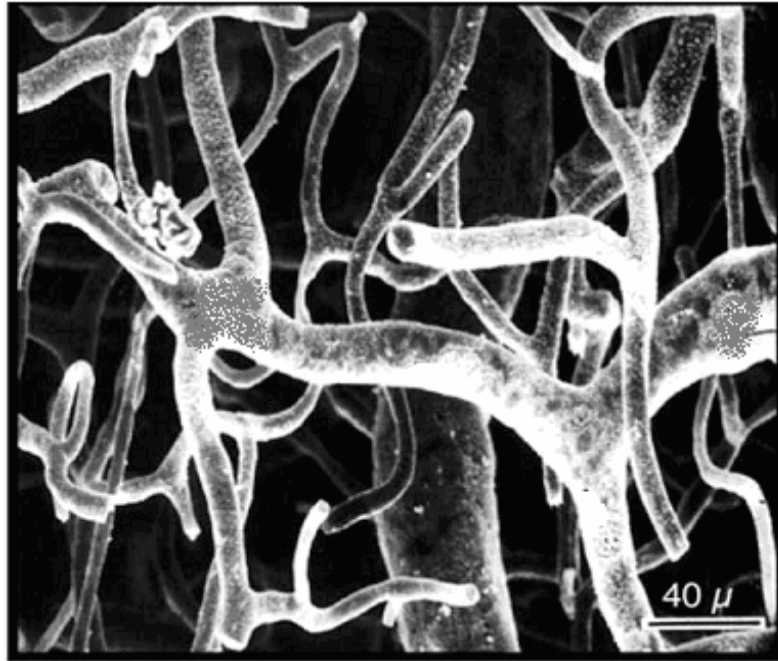


Abb. 11 Diese rasterelektronenmikroskopische Aufnahme zeigt das dichte Kapillargeflecht in der Hirnrinde beim Menschen. Der Abstand zwischen den Gefäßen beträgt nur 40 μm wo raus folgt, dass jedes Neuron von seinem eigenen Blutgefäß versorgt wird (aus Duvernoy et al., 1983).

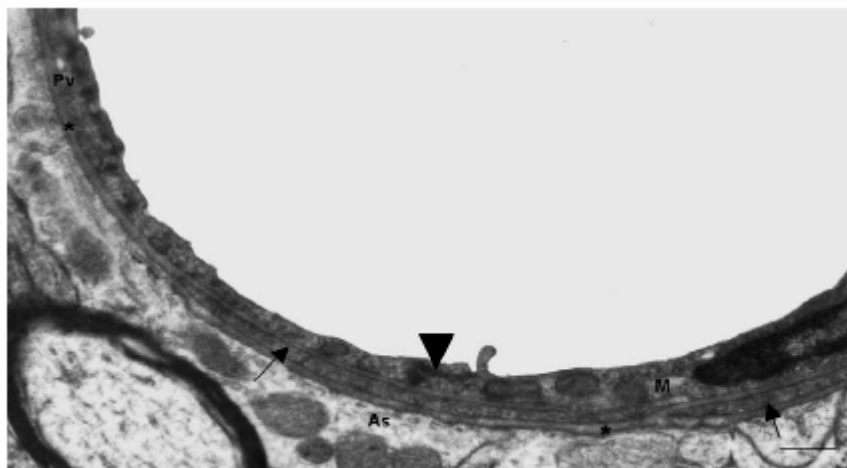


Abb. 12 Ausschnitt aus der Wand einer „dichten“ Gehirnkapillare. Die Endothelzellen sind durch TJ miteinander verbunden (Pfeilspitzen), einige Pinocytose Vesikel sind im Zytoplasma erkennbar (Pv). Die Basallamina (*) bildet eine dünne Schicht um die Endothelzellen, welche die Perizyten einschließt (Pfeile). Die Anschnitte des Astrozytenendausläufer sind ebenfalls erkennbar(As). Balken: 0,2 μm (aus Alba, 2004).

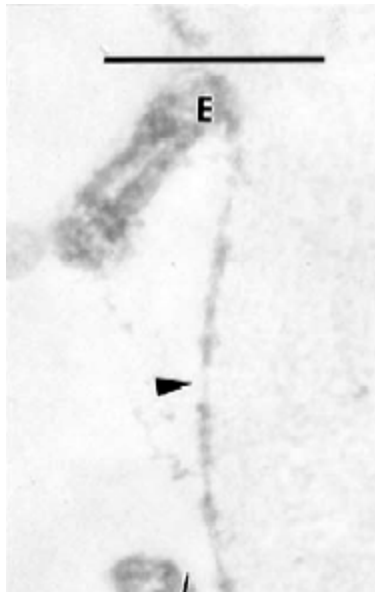


Abb. 13 Diese TEM Aufnahme zeigt eine Kapillare aus dem Plexus choroideus einer Maus und verdeutlicht die Fenestrierung der dortigen Kapillaren (Pfeilspitze). E Endothelzelle; Balkenlänge: 0,5 μm (aus Vorbrodt und Dobrogowska, 2003).

Mit in die Basalmembran involviert sind sogenannte Perizyten, die circa 20 bis 32 % der Brain Capillar Endothel Cells (BCECs) abdecken (Frank et al., 1987; Allt und Lawrenson, 2001, Fenstermacher et al., 2001). Sie besitzen eine Vielzahl von Funktionen, wie zum Beispiel Kontraktion und Blutflussregulierung, Stabilisierung der Gefäße und deren Barriereeigenschaften, Vorreiter in der Angiogenese (Sims, 2000) (siehe unten Kapitel Perizyten). Da sie aber kontraktile Eigenschaften besitzen, wird vermutet, dass sie an der Blutdruckregulation im ZNS beteiligt sind (Kamouchi et al., 2004). Die mögliche Beteiligung an Transportvorgängen (Krause et al., 1993) oder eine Beeinflussung des Kapillarwachstums und der Differenzierung des cerebralen Kapillarendothels (Antonelli-Orlidge et al., 1989; Balabanoov und Dore-Duffy, 1998), die schon diskutiert wurden, gelten mittlerweile als bewiesen. Der Basalmembran liegen die Astrozytenfüßchen auf, die etwa 99 % der abluminalen Seite des Kapillarendothels bedecken (Abb. 14). Diese Endausläufer der Astrozyten sind jedoch nicht für die Impermeabilität verantwortlich, wie einige Zeit lang angenommen wurde, sondern versorgen die Neuronen mit Nährstoffen und regulieren die extrazelluläre Ionenkonzentration (Abott, 2002). Es wird den Astrozyten auch ein gewisser Einfluss während der Differenzierung zum dichten zerebralen Kapillarendothel nachgesagt (Holash et al., 1993; Minakawa et al., 1991). Die in der Peripherie der Endothelzellen gelegenen Astrozyten, Perizyten und Neurone sind wichtig für die Realisierung einer dichten Barriere, wobei es sich hier um ein System der gegenseitigen Beeinflussung handelt, das noch immer nicht vollständig erforscht und verstanden ist (Haseloff et al,

2005). Im Kapillarendothel sind sehr wenige Mikrovesikel zu finden. Dafür ist aber die Zahl der Mitochondrien sehr hoch. Sie zeichnen sich oft als eine Reihe im Zytoplasma ab (Fenstermacher et al., 2001). Zusammenfassend gesehen ist die BHS im großen Netzwerk der Gehirnkapillaren und deren Endothelien lokalisiert. Charakteristisch für diese Barriere im Gehirn sind:

- das unfenestrierte Endothel;
- der hohe transendothelialer Widerstand, hervorgerufen durch die Tight junction;
- die niedrige Pinozytoserate,
- die durchgehende Basalmembran und
- eine hohe Dichte von Mitochondrien (Reese und Karnovsky, 1967; Stewart und Hayakawa, 1994; Betz und Goldstein, 1986; Dermitzel und Krause, 1991).

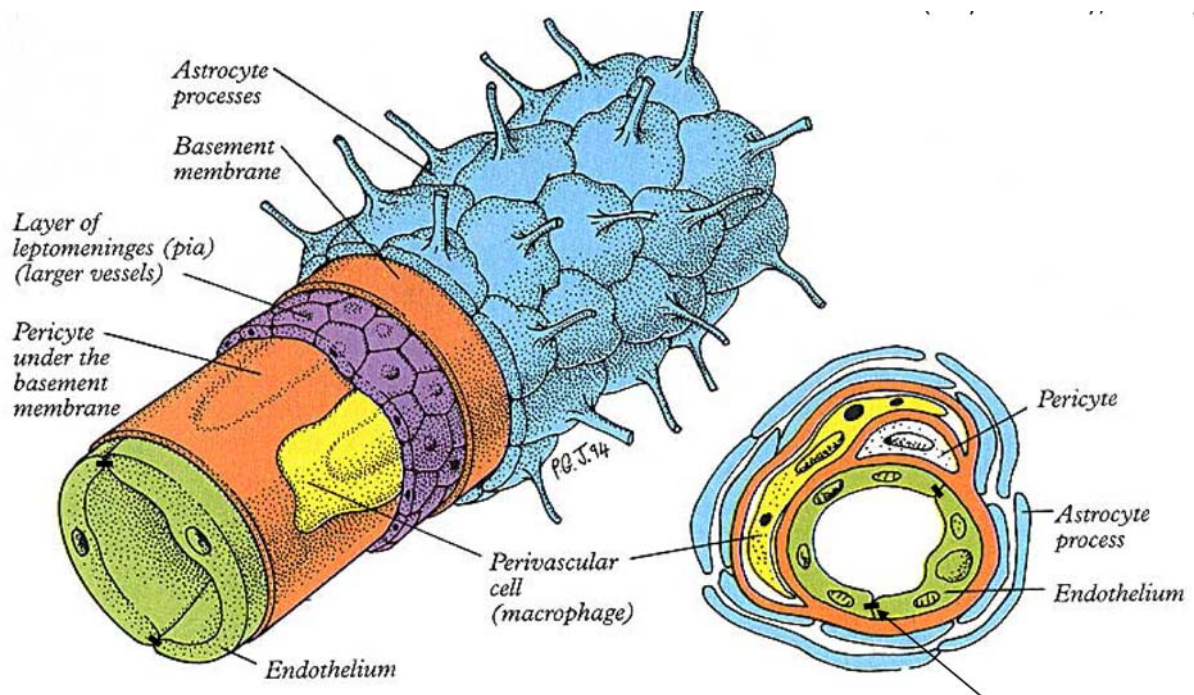


Abb. 14 Die morphologische Grundlage der BHS sind die Tight junctions zwischen den Endothelzellen. Die dichte Ummantelung mit Perizyten und Astrozyten ist bei den Säugetieren dagegen nicht direkt an der Bildung der BHS beteiligt (aus Gray, 1995).

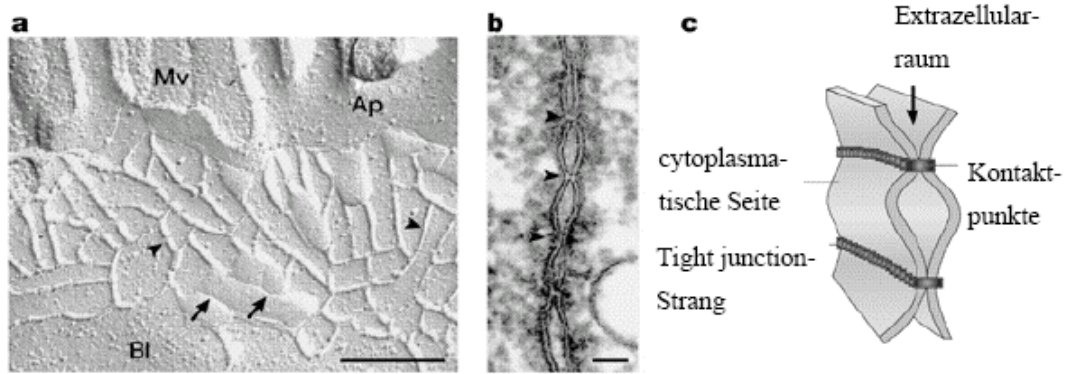


Abb. 15 Struktur der Tight junctions–Stränge schematisch und mit unterschiedlichen optischen Verfahren aufgenommen (aus Tsukita et al., 2001):

- a) Mit Hilfe des Gefrierbruchverfahrens gemachte REM der extrazellulären Seite des TJ (Balkenlänge: 50 nm)
- b) TEM Ultradünnschnitt: Die Pfeile zeigen die Kontaktstellen der TJ Stränge beider Zellen (Balkenlänge: 200 nm)
- c) Zeichnerische Darstellung einer TJ Kontaktzone

Morphologische Grundlage der engen Verbindung von Epithelzellen ist der sogenannte „junctional complex“, den Farquahar und Palade (1963) erstmals beschrieben und in drei Komponenten unterteilen:

Die am weitesten apical liegenden zonulae occludens oder Tight junctions, direkt darunterliegend die zonula adherens (adherens junction) (Huber et al., 2001), der die macula adherens, die aus einer Serie von Desmosomen besteht, angelagert ist (Farquahar und Palade, 1963). Die Tight junctions, die die Schlüsselstruktur bei der BHS darstellen (Reese und Karnovsky, 1967; Tani et al., 1977a, b; Shivers, 1979a, b; Haseloff et al., 2005), in einer Tiefe zwischen 100 bis 800 nm sind eine Zone, in der sich die Plasmamembranen der benachbarten Zellen stark angenähert haben (Abb. 15b). Diese Apposition verläuft wie eine Manschette um die Zelle (Madara, 1991). Im Transmissionselektronenmikroskop sind die TJ als Berührungspunkte von aneinandergrenzenden Plasmamembranen der angrenzenden Endothelzellen zu sehen, wobei an diesen Kontaktpunkten sogenannten „kissing points“ kein Interzellularspalt mehr zu erkennen ist (Abb. 15b, c; Abb. 17). Einen Spalt von 15-20 nm weisen jedoch die in basolateraler Richtung benachbarten Membranen der Adherens junction und Desmosomen auf (Tsukita et al., 2001). In rasterelektronenmikroskopischen Bildern, die mit Hilfe der freeze–fracture-Technik aufgenommen wurden, erscheinen die

TJ auf der extrazellären Seite (E-face) als Aneinanderreihung vom Gräben und Furchen (Abb. 15a). Diesen stehen auf der zytoplasmatischen Seite (P-face) komplementäre Stränge (Abb. 18) oder Fibrillen entgegen (Brightman, 1989; Wolburg et al., 1994). Diese TJ-Stränge (Staehlin, 1973) sind in ihrer Morphologie und Anzahl je nach Zelltyp unterschiedlich. Die Stränge benachbarter Zellen kommunizieren miteinander und bilden so einen gepaarten Strang (Tsukita et al., 2001).

Durch welche Mechanismen die Strangzahl in einem Gewebe festgelegt wird, ist zurzeit jedoch noch nicht bekannt (Tsukita et al., 2001). Dass die Strangzahl mit dem transendothelialen elektrischen Widerstand (TEER) korreliert, konnte schon durch Claude und Goodenough (1973) bewiesen werden. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Erhöhung der Strangzahl mit einem logarithmischen Anstieg des TEER einhergeht (Claude, 1978). Es gibt allerdings auch Ergebnisse, die beweisen, dass dies nicht der einzige Faktor ist. So konnte gezeigt werden, dass bei einem 40 Tage alten Schafembryo Stoffe, wie Succrose und Inulin, ohne Reglementierung vom Blut in den Liquor gelangen können, was bei einem 125 Tage alten Schafembryo nicht mehr möglich ist, da sich da bereits die Blut-Liquor-Schranke etabliert hat (Møllgard et al., 1976). In den elektronenmikroskopischen Aufnahmen erschienen die Strangzahlen beider Altersgruppen allerdings nahezu gleich. Entscheidend war, dass die Kontinuität der Stränge zugenommen hatte (Brightman, 1989).

Die Tight junctions oder Zonulae occludentes spielen bei der Etablierung von Barrieren im Körper eine sehr wichtige Rolle, weshalb sie in diesen Körperregionen in allen Endothelien und Epithelien vorkommen (Lohmann, 2003). Sie unterbinden jedoch nicht nur den ungerichteten parazellulären Stofftransport, sondern sie helfen auch dabei, die Polarität der Enzyme und Rezeptoren an den unterschiedlichen Domänen luminal und abluminal der BCEC aufrecht zu erhalten (Lohmann, 2003; Deli et al., 2005). Desweiteren verhindern sie durch diese „fence function“ die freie Diffusion von integralen Membranproteinen und Lipiden (Ebnet et al., 2003). Von allen im Körper zu findenden Tight junctions, sind jedoch die im Hirngewebe lokalisierten am komplexesten aufgebaut (Abb. 16) (Nagy et al., 1984).

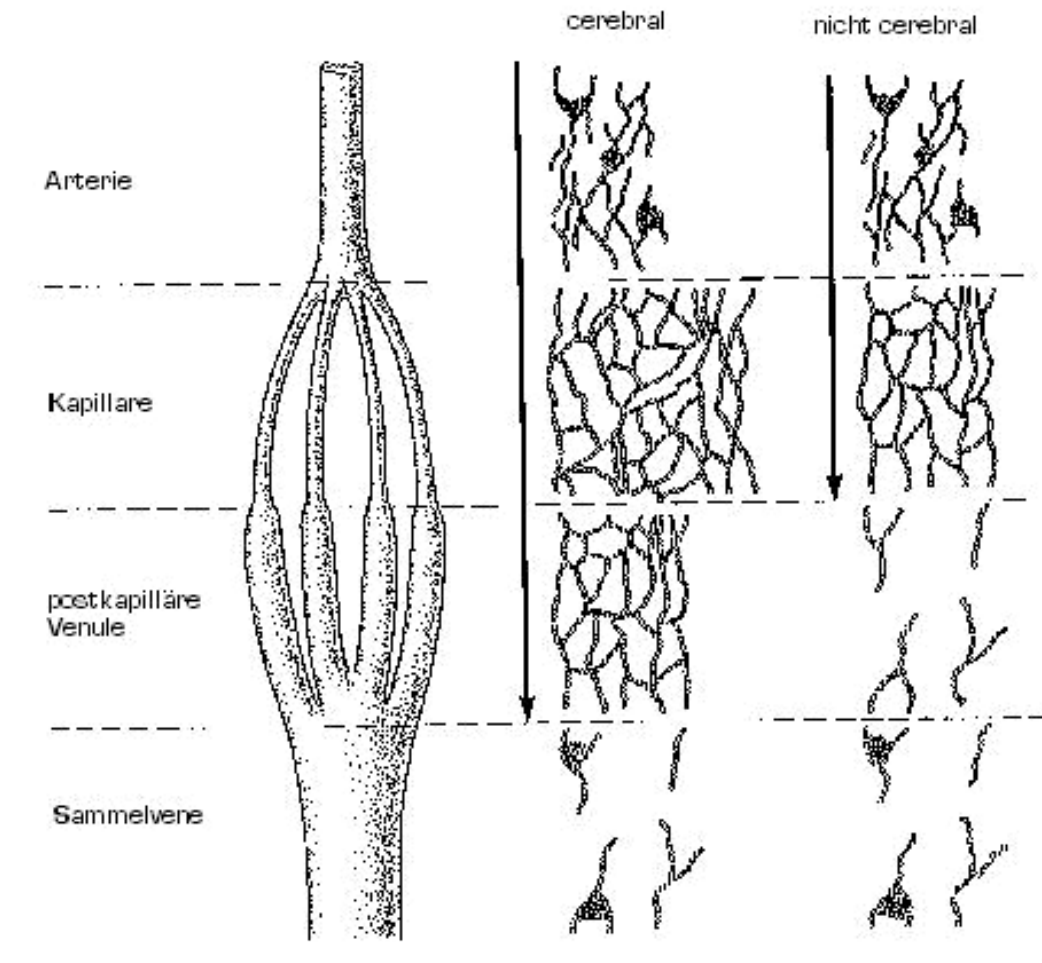


Abb. 16 Schema der Komponenten des Mikrogefäßsystems und die jeweiligen dort befindliche Struktur der TJ-Stränge in cerebralen und nicht cerebralen Geweben (aus Nagy et al., 1984).

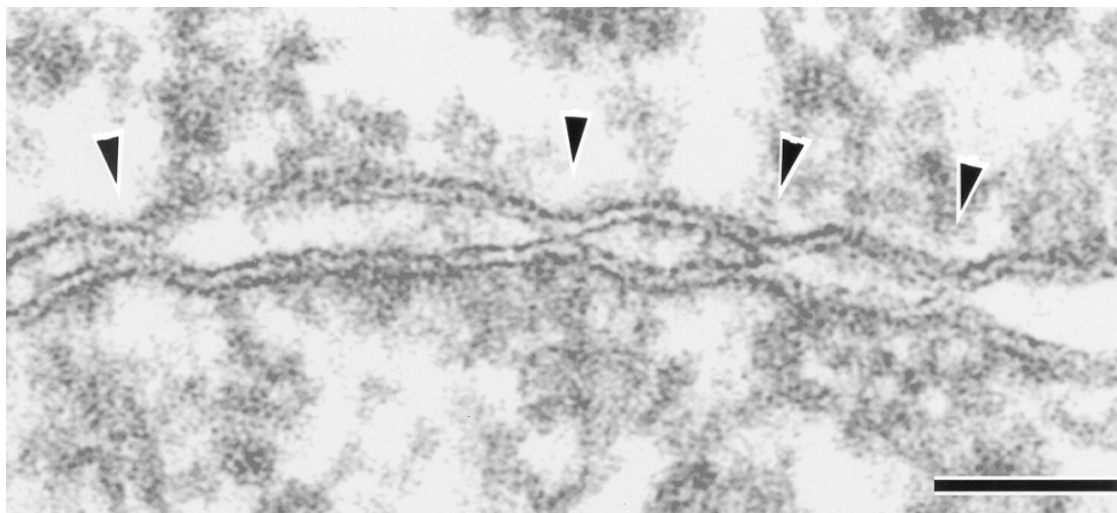


Abb. 17 TEM Ultradünnschnitt der Kontaktstellen „kissing points“ (Pfeilspitzen) eines TJ sind (Balkenlänge: 100nm) (aus Tsukita et al., 2000).



Abb. 18 Freeze fracture Aufnahme des Plexus choroideus eines lateralen Ventrikels der Maus. Die TJ bilden parallele Stränge zwischen den Epithelzellen, die kaum unterbrochen und hauptsächlich mit der „p-face“ Fläche assoziiert sind. Balkenlänge = 100nm (aus Engelhardt et al., 2001).

Fence function

Die Tight junctions verschließen nicht nur den Interzellularspalt, sondern sie verhindern auch, dass innerhalb der Lipiddoppelmembran durch laterale Diffusion Membranbestandteile ausgetauscht werden. Apikale und basolaterale Membranteile sind durch diese, als „fence-function“ bezeichnete, Funktion der TJ voneinander getrennt (Lohmann, 2003). Die Abtrennung erfolgt durch die Transmembrandomänen der beteiligten TJ assoziierten Proteinen. TJ's umschließen die Endothelzellen rundum wie einen Gürtel und sorgen für eine Verbindung zwischen den Nachbarzellen (Greig, 1992; Fenstermacher et al., 2001) (Abb. 19).

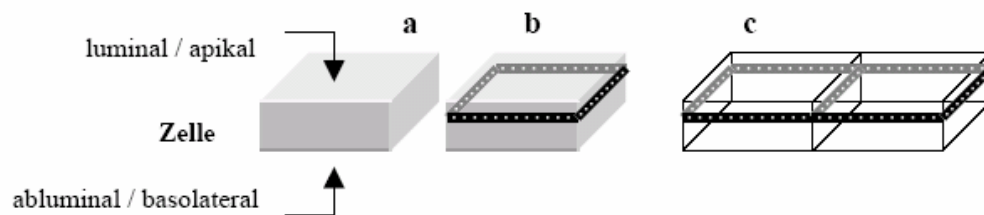


Abb. 19 Schematische Darstellung der TJ Anordnung

Die TJ Stränge umlaufen die laterale Plasmamembran (a) im apikalen Bereich der Zelle (b) vollständig. Luminale und Abluminale Bereiche der Lipiddoppelschicht werden durch die TJ voneinander getrennt und mit den Nachbarzellen durchgehende Kontaktlinien ausgebildet (c). (aus Lohmann, 2003).

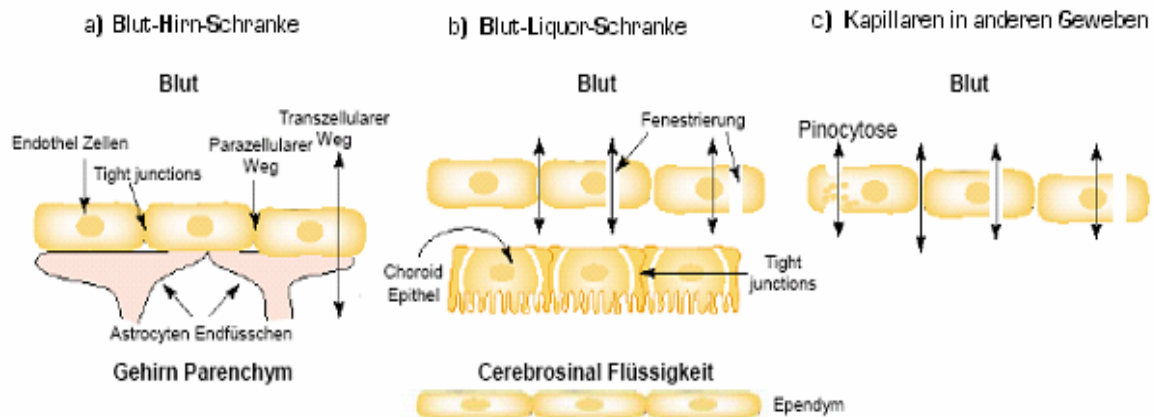


Abb. 20 Grafische Darstellung der verschiedenen Barrieren des ZNS und deren Blutgefäß-konstruktion

a) an der Blut-Hirn-Schranke verhindern die TJ den parazellulären Stoffaustausch die begrenzte Anzahl der Transportvesikel reglementiert zusätzlich den transzellulären Transport
b) die Gefäße in der Blut-Liquor-Schranke sind gefenestert, aber durch die TJ des Plexus-epithels ist hier der Transport von Stoffen sehr viel stärker eingeschränkt, als in den Kapillaren von Organen, die weniger gut durch TJ abgedichtet sind c) (nach Kusahara und Sugiyama, 2001b).

Die in anderen Geweben, als dem ZNS, vorkommenden TJ's besitzen weniger Stränge, so dass sie stellenweise einen parazellulären Transport ermöglichen (Nagy et al., 1984). In manchen Geweben sind in den Kapillaren Tight junctions zu finden, die teilweise durch Gap junctions unterbrochen sind (Greig, 1992).

Die TJ's verhindern weitgehend den parazellulären Transport, so dass die meisten Stoffe gezwungen sind durch die luminale und die abluminale Membran, sowie ein oder mehrere Kompartimente der Endothelzelle zu wandern (Fenstermacher et al., 2001). Das Fehlen bestimmter Transportmechanismen, es sind zum Beispiel in den BCECs nur wenige Microvesikel zu finden, wodurch die Transcytoserate sehr stark reduziert wird (Fenstermacher et al., 2001), sorgen dafür, dass Stoffe, größer als 20 kDa, nicht ohne weiteres die BHS überwinden können. Außerdem ist der transendotheliale elektrische Widerstand des Gehirnkapillarendothels, verglichen mit anderen Geweben sehr hoch (Gherzi-Ega et al., 2001). Messungen an dieser Zellbarriere ergaben ca. $1900 \Omega/\text{cm}^2$ beim Frosch (Crone und Olesen, 1982). Bei der Ratte wurden Werte zwischen 1500 bis $2000 \Omega/\text{cm}^2$ gefunden (Butt et al., 1990). Der gemessene elektrische Widerstand des Kapillarendothels im Muskelgewebe beträgt dagegen nur z.B. ca. $30 \Omega/\text{cm}^2$ (Butt et al., 1990), gemessen bei der Ratte, die Werte

bei messenterialen Kapillaren liegen sogar nur bei $1\text{--}2\ \Omega/\text{cm}^2$ (Greig, 1992). Der wohl höchste transepitheliale Widerstand im Körper ist mit $6000\text{--}30000\ \Omega/\text{cm}^2$ am Harnblasenepithel zu finden (Powell, 1981). Durch diese hohe Dichtigkeit wird es nötig, dass alle Stoffe, die vom Gehirn benötigt werden, an den BCEC's erkannt und transportiert werden können. Dies gilt insbesondere für wasserlösliche Substanzen, während es fettlöslichen relativ leicht fällt, durch die Zellmembranen dieser Kapillarzellen zu diffundieren (Märten, 2004; Psathaki, 2003). Wichtig ist dies beispielsweise für fettlösliche Vitamine (E, A, D, K) und Medikamente (Diazepam), aber auch lipophile Drogen, wie Nikotin und Heroin, gelangen so sehr leicht in das Gehirn (Breckner, 2004; Psathaki, 2003). Um Voraussagen treffen zu können, wie gut eine Substanz die BHS überwinden kann, wird der Octanol/Wasser Koeffizient ermittelt. Dieser ist allerdings nur aussagekräftig, wenn für diese Substanz keine spezifischen Transportmechanismen vorhanden sind (Levin, 1980; Lohman et al., 2002; Pardridge, 1993). Weitere wichtige Werte sind Molekülgröße und Molekulargewicht (Goldstein und Betz, 1986). Auch der Dissoziationsgrad ist wichtig, da meist nur der undissoziierte Teil einer Substanz, also der Teil, der nicht an ein Protein gebunden ist, in das Gehirn transportiert werden kann. Die durchgehende Barriere der BHS verhindert fast vollständig, das leichte Eindringen polarer Substanzen ins Gehirn. Möglicherweise wird sogar Wasser aufgrund der Barriere, die die Tight junctions bilden, dazu gezwungen, durch die Zelle zu diffundieren (Fenstermacher et al., 2001), was ihm aber aufgrund seiner geringen Molekülgröße sehr leicht fällt. Wobei Abott et al. (2001) noch einen „paracellular aqueous pathway“ propagieren. Außer der Diffusion steht dem Wasser noch der Weg durch sogenannte Wasserporen offen (Märten, 2004). Auch für die Atemgase Sauerstoff und Kohlendioxid ist die BHS kein großes Hindernis. Diese, genauso wie lipophile Substanzen, gelangen durch Diffusion transzellulär durch die Kapillarzellen des Gehirndothels. Alle anderen Stoffe, die für die Energieversorgung und Ernährung des Gehirns von Bedeutung sind, müssen über spezielle Transportmechanismen ins Hirngewebe übergeführt werden (Friedrich, 2000; Märten, 2004; Psathaki, 2003). Die gesamte Barriere kann prinzipiell als ein durch Tight junction fest verbundenes System verschiedener Zellschichten angesehen werden. Die, durch die Tight junctions abgedichteten Gehirnkapillaren bilden die Blut-Hirn-Schranke (Spector, 2000) (Abb. 20), wobei Kalzium eine modulationsunterstützende Wirkung zukommt (Abbruscato und Davis, 1999). Dieses Kollektiv separiert das Gehirn und die Cerebrospinalflüssigkeit von dem Blut und agiert parallel, wie vorliegend (1992) schematisch dargestellt (Abb. 21).

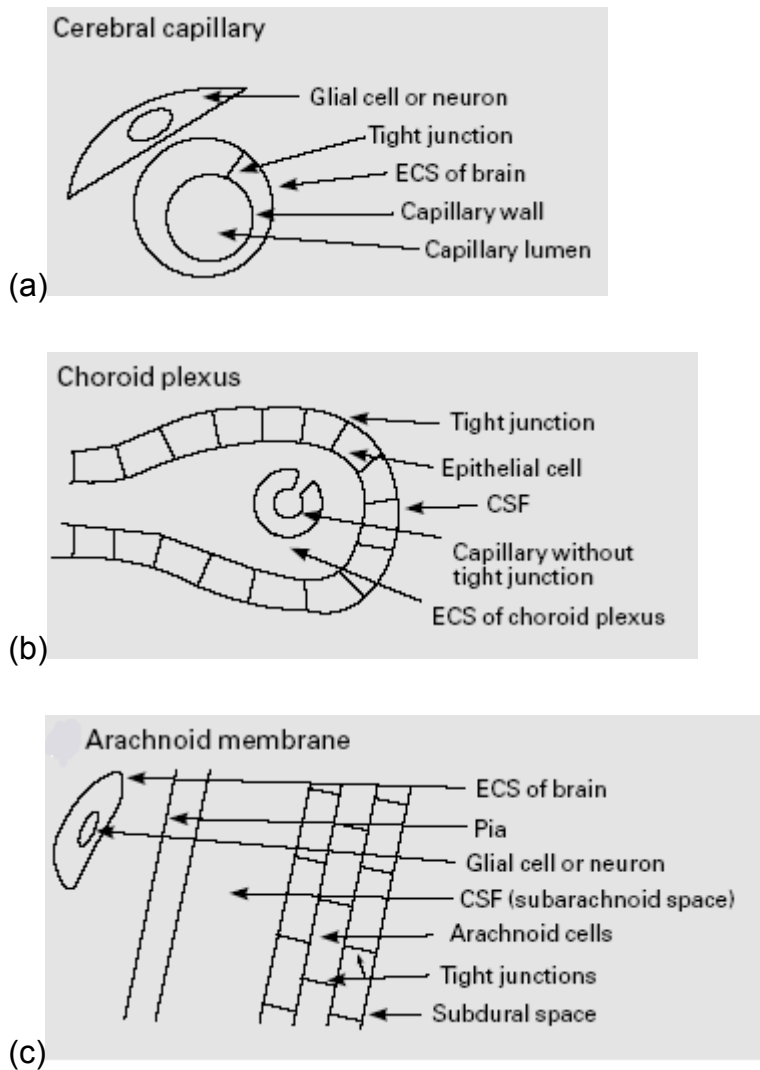


Abb. 21 Schemata der BHS (a) und der BLS (b), (c) aus (Spector, 2000).

2. Astrozyten

Gliazellen sind im Großhirn eines Säugers 10mal häufiger zu finden, als Nervenzellen. Ein wichtiger Vertreter dieser Zellfamilie ist der Astrozyt (Schilling et al., 2004). Diese bilden bei niedrigen Vertebraten, wie den Haien, eine gliale BHS aus (Gotow and Hashimoto, 1984), wie es früher auch für die Mammalier angenommen wurde (Haseloff et al., 2005). Astrozyten sind sternförmige Zellen (Abb. 23), die zahlreiche Fortsätze besitzen (Bradbury, 1979). Zytologische Merkmale sind ein runder Kern, ein gut entwickelter Golgi Apparat, einige große Mitochondrien, die auch in den Ausläufern liegen können, wenig endoplasmatisches Retikulum und die Einlagerung von Glykogengranula (Maxwell und Kruger, 1965; Bradbury, 1979). Bei den Astrozyten

sind die fibrinösen von den plasmatischen Astrozyten zu differenzieren (Bradbury, 1979). Die fibrinösen Astrozyten besitzen wenige lange Fortsätze und sind in der weißen Substanz zu finden. Die plasmatischen Astrozyten hingegen sind mit kurzen Fortsätzen ausgestattet und in der grauen Substanz beheimatet (Schilling et al., 2004). Im Zytoplasma der Astrozyten befinden sich Intermediärfilamente, die aus dem für Astroglia spezifischen Protein, dem sauren glialen fibrillären Protein (GFAP), bestehen. Die Filamente verleihen den Astrozyten eine feste Struktur, so dass sie die Gewebe des ZNS auch mechanisch unterstützen (Haseloff et al., 2005; Schilling et al., 2004).

Neben der Stützfunktion besitzen die Astrozyten noch andere Aufgaben. Sie sind essentiell für die Aufrechterhaltung des ionischen und chemischen Milieus des Extrazellulärraums im ZNS. Astrozytenfortsätze bilden Grenzflächen zur Gehirnoberfläche, bzw. Pia mater oder zu den Blutgefäßen (Landis und Reese, 1981). Die an den Oberflächen der Glia limitans gefundenen orthogonalen Strukturen wurden als Transporter interpretiert und legten nahe, dass die Astrozyten an bestimmten Transportprozessen beteiligt sind (Landis und Reese, 1981) (Abb. 22).

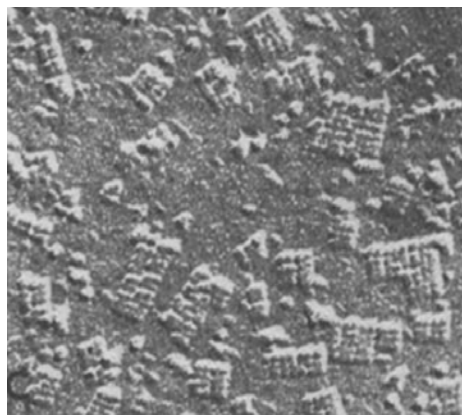
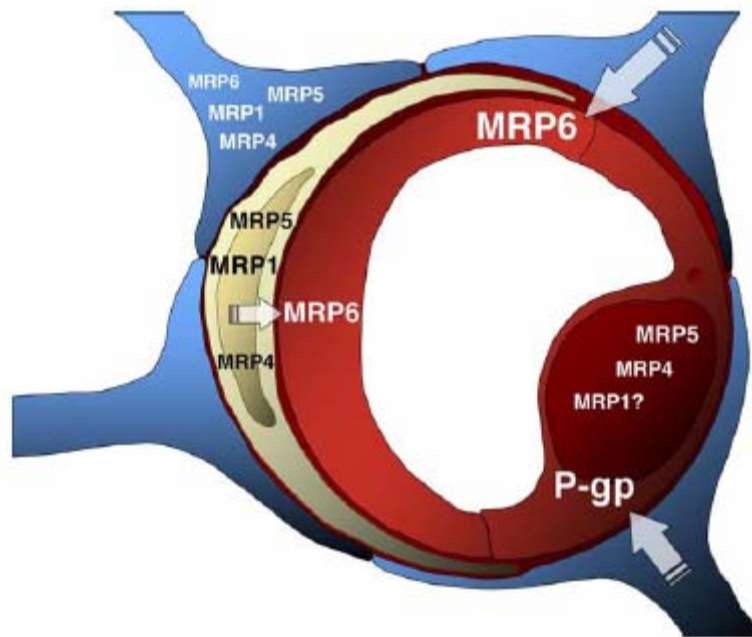


Abb. 22 Die freeze fracture Aufnahme zeigt die orthogonalen Strukturen an der durch die Astrozytenendfüßchen gebildeten Glia limitans (Landis und Reese, 1981).

Des Weiteren sind Astrozyten sowohl bei der Eliminierung der Transmitter GABA und Glutamat, als auch bei der Versorgung der Nervenzellen mit wichtigen Nährstoffen beteiligt (Schilling et al., 2004). Astrozyten produzieren neurotrope Faktoren und beeinflussen sowohl Differenzierung, als auch Funktion der Nervenzellen. Ebenso sind Rezeptoren für Wachstumsfaktoren und Neuropeptide auf Astrozyten nachgewiesen worden (Schilling et al., 2004). Sie haben beim Aufbau der BHS der Säuger nicht die



Astrozyten sorgen offenbar für die Organisation und Strukturierung der Gefäßwand. Wie in vitro Versuche zeigten, bei denen sich, erst nach dem Zusatz von Astrozyten, bei einer Cokultur von Perizyten und Endothelzellen „capillary like structures“ ausbildeten. Einen ähnlichen Effekt gab es auch beim Zusatz des Wachstumsfaktors „transforming growth factor beta 1“ (TGF- β 1) (Ramsauer et al., 2002). Untereinander stehen die benachbarten Astrozyten durch Gap junctions in Verbindung, so dass Informationen in Form von Kalziumwellen weitergegeben und die Funktionen über weite Strecken koordiniert werden können (Junqueira et al., 2004). Astrozyten beein-

fließen auch andere Zellen des ZNS. So wird zum Beispiel der Myelinumsatz der Oligodendrozyten durch Zytokine des Astrozyten beeinflusst (Schilling et al., 2004). Da sie ebenfalls die Perizyten miteinschließen, kommt ihnen die Rolle des Mediators zwischen den Endothelzellen und dem umgebenden neuronalen Gewebe zu (Hasselhoff et al., 2005).

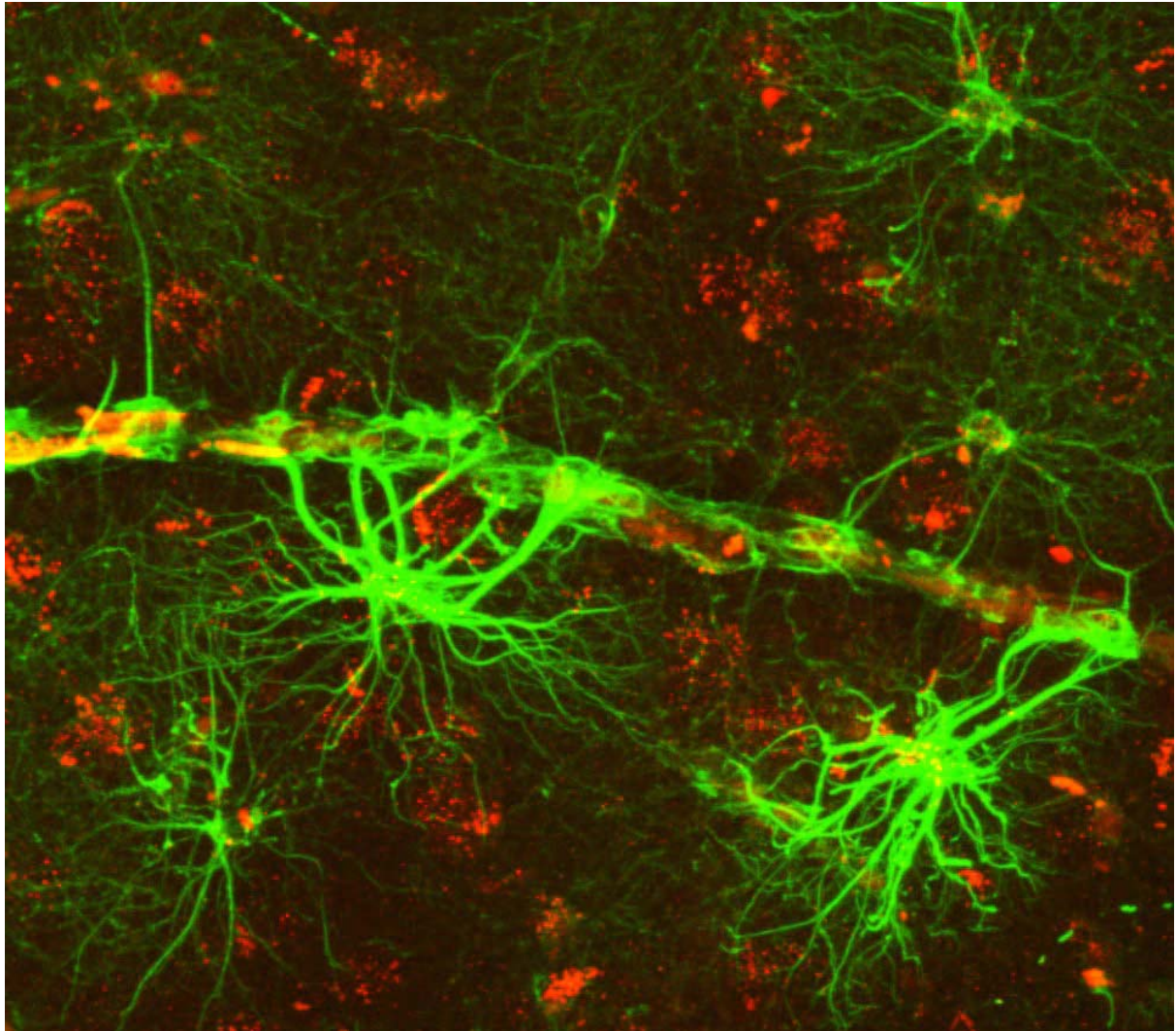


Abb. 24 Konfokale Laserscann-Aufnahme einer Hirnkapillare des Menschen mit immunfluoreszenzmarkierten Astrozyten (Aufnahme von Dr. H. J. Bidmon aus der Internetseite [www.anatomie.net/Unterricht/ Vorlesung/Neuroglia ebook.pdf](http://www.anatomie.net/Unterricht/Vorlesung/Neuroglia_ebook.pdf)).

3. Perizyten

Perizyten wurden erstmals von Rouget (1873) beschrieben. Ihr Name ist jedoch von Zimmermann (1923) geprägt worden. Diese Zellen sind an nahezu allen Mikrogefä-

ßen des Körpers zu finden (Sims, 1991), wobei offenbar nur in den Sinusoiden von Leber, Milz, Knochenmark und den mesangialen Zellen der Glomerula der Nieren keine Perizyten vorhanden sind (Diaz-Flores et al., 1991). Die Perizytenstruktur differenziert stark. Je nach Gewebe und Aufgabe adaptieren sie sich entsprechend (Hirschi und D'Amore, 1996; Allt und Lawrenson, 2001). Die auch als Rouget Zellen oder muralen Zellen bezeichneten Perizyten sind abluminal mit den Endothelzellen der Prä-, Mitt- und Postkapillaren und den Venolen assoziiert (Allt und Lawrenson, 2001; Diaz-Flores et al., 1991; Hirschi und D'Amore, 1996; Joyce et al., 1985a; Joyce et al., 1985b; Rucker et al., 2000). Die vom Mesoderm abgeleiteten Perizyten (DeNofrio et al., 1989; Sims, 1991, Nehls et al., 1992; Rucker et al., 2000) wandern wahrscheinlich bei der Neovaskularisation mit den kapillären Endothelzellen in die neuroepitheliale Zellschicht des sich entwickelnden Gehirns ein (Haseloff et al., 2005). Es gibt auch die Hypothese, dass sich die Perizyten, genauso wie die vaskulären glatten Muskelzellen des Gehirns, direkt aus den Zellen des umgebenden Neuroektoderms rekrutieren können (Korn et al., 2002).

Struktur

Trotz einer speziesübergreifenden Grundstruktur der Perizyten (Nakano et al., 2000) (Abb. 27, 28), konnte schon Zimmermann (1923) Unterschiede in Form, Größe und Verteilung der Perizyten, z. B. für Mensch, Ratte, Bär, Katze und Igel nachweisen. Gurwitsch (1923) hat ähnliche Untersuchungen bei Fischen, Reptilien und Vögel durchgeführt und kam zu dem gleichen Ergebnis. Das bedeutet, dass sich Perizyten in ihrer Morphologie, in Größe, Wachstum und Verteilungsmuster, je nach Gewebe und Spezies (Zimmermann, 1923) unterscheiden und auch bei der Kultivierung auf unterschiedlichen Medien tritt ein differentes Aussehen zu Tage (Balabanov und Dore-Duffy, 1998) (Abb. 25). Auch zu Prä- und Postkapillaren und Venolen, die als Übergangsperizyten angesprochen werden und zu den „echten“ Perizyten der Mittkapillaren (Zimmermann, 1923, Rucker et al., 2000; Drenckhahn, 2004) gibt es Unterschiede.

Die Übergangsperizyten sind gedrungener, die Ausläufer dicker und weniger verzweigt, die Nukleus-Region ist weniger ausgedehnt als bei den Mittkapillarperizyten (Diaz-Flores et al., 1991). Beim Übergang von einer Präkapillare auf eine Kapillare

ändert sich der Perizytencharakter. Das Perikaryon ist extrem langgezogen (Diaz-Flores et al., 1991), die Querfortsätze werden schmaler und stehen dichter (Zimmermann, 1923) (Abb. 26).



Abb. 25 ZNS Perizyten der Ratte kultiviert auf einer Kunststoffoberfläche (aus Balabanov und Dore-Duffy, 1998)

Die Perizyten der Mittkapillaren stellen sich als bis zu 0,2 mm große schlanke Zellen dar, welche nur stummelförmige Ausläufer ausbilden und enthalten kein glattmuskuläres Myosin, weshalb ihre kontraktile Fähigkeiten beschränkt sind (Drenckhahn, 2004). Ihre Aufgabe ist die Stabilisierung des Gefäßes; die Ausläufer umfassen etwa 30-50 % des Endothelrohres (Drenckhahn, 2004).

Die frühere Annahme, dass sich die Morphologie der Perizyten aufgrund der unterschiedlichen mesenchymalen Abstammung in den jeweiligen Geweben unterscheidet, steht im Gegensatz zu der Erkenntnis, dass sich die Perizyten sogar innerhalb des gleichen Kapillarbettes unterscheiden können (Rucker et al., 2000).

Der Zellkörper eines Perizyten ist durch einen prominenten Nukleus, umgeben von zu wenig Zytoplasma, gekennzeichnet, von welchem zytoplasmatische Ausläufer ausgehen (Zimmermann, 1923; Rucker et al., 2000; Allt und Lawrenson, 2001). In den Kapillaren ziehen lange primäre Ausläufer nahezu parallel zur Gefäßachse, diese gehen in kleinere sekundäre Ausläufer über, welche die Kapillaren umfassen (Allt und Lawrenson, 2001; Diaz-Flores et al., 1991; Rucker et al., 2000; Welsch,

2003; Zimmermann, 1923;), wobei von diesen noch einmal kleinere tertiäre Ausläufer abgespalten werden (Shepro und Morel, 1993) (Abb. 27, 28).

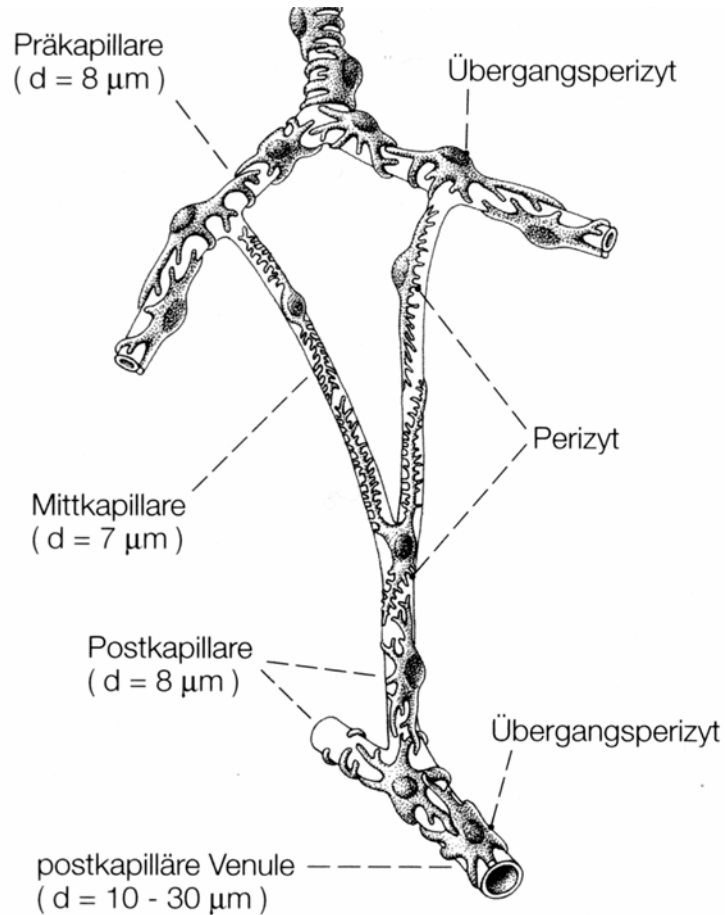


Abb. 26 Schema der Perizytenmorphologie an verschiedenen Kompartimenten des Kapillarsystems sowie deren Durchmesser- Angaben. (aus Drenckhahn et al., 2004).

Obwohl die Abdeckung der Perizyten an einem Gefäß nicht vollständig ist, gibt es Bereiche, an denen sich die zytoplasmatischen Ausläufer einfach oder doppelt überlappen (Diaz-Flores et al., 1991). Der Perizyt kann die zytoplasmatischen Ausläufer auch soweit ausdehnen, dass sie zu mehr als einem Haargefäß Kontakt aufnehmen (Allt und Lawrenson, 2001), wobei der Kern dann zwischen diesen Kapillaren liegt (Shimada et al., 1992; Zimmermann, 1923).



Abb. 27 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Kapillare einer Ratte: Zu sehen ist der verdickte Teil des Kerngebietes (N) die parallel zur Gefäßachse verlaufenden Primärausläufer (1) von diesen gehen rechtwinklig die das Gefäß umfassende Sekundärprozesse (2) ab, die wiederum Tertiärausläufer (3) abspalten. Die Pfeilspitzen markieren die freie abluminale Oberfläche der Endothelzellen (aus Shepro und Morel, 1993).

Zusammenfassend lassen sich die Perizyten in 3 Typen bezüglich Form und Lokalisation unterteilen (Shimada et al., 1992):

Typ I findet man an den echten Kapillaren (Mittkapillaren). Er besitzt einen fusiformen oder polygonalen Zellkörper, an dem wenige lange longitudinal orientierte Primärprozesse abgehen, die sich in kleinere Sekundärprozesse aufzweigen, die die Kapillare umgreifen.

Typ II Perizyten befinden sich an dem arteriellen Schenkel (Präkapillaren). Diese sind gekennzeichnet durch ihre großen, flächigen, eher bandartigen Ausläufer, die das Gefäß komplett einschließen.

Die mit dem venösen Schenkel (Postkapillaren) assoziierten Typ III Perizyten zeichnen sich durch einen abgeflachten, relativ großen Zellkörper und kurze unregelmäßige zelluläre Prozesse aus.

Typ II und III können als Zwischen- oder Übergangsform zwischen den gewöhnlichen Typ I Perizyten und den glatten Gefäßmuskelzellen an den Prä- und Postkapillaren betrachtet werden (Shimada et al., 1991). Typischerweise umgreifen die Ausläufer eines Perizyten das Endothelrohr einer Kapillare. Ihre Fortsätze können aber auch zu anderen Gefäßen der umgebenden Gewebe und den perivaskulären Zellen vorstoßen (Forbes et al., 1977; Rhodin, 1968).

Ultrastruktur

Die Perizyten etablieren mit den Endothelzellen eine gemeinsame Basalmembran (Allt und Lawrenson, 2001; Balabanov und Dore-Duffy, 1998; Rucker et al., 2000). Hierbei können die Zellkontakte durch drei unterschiedliche Arten hergestellt werden; entweder durch Gap junction oder durch Adhesions Plaques. Eine weitere Form des Kontaktes zwischen Endothelzelle und Perizyt erfolgt durch sogenannte „peg and socket junctions“ (Sims, 1991). Bei dem „peg und socket“ Kontakt formt eine Zelle einen zytoplasmatischen Ausläufer, der von der anderen Zelle eingebettet wird (Sims, 1991). Der Nachweis, dass durch die Gap junctions, zwischen kultivierten Endothelzellen und Perizyten, Nucleotide transportiert werden können, zeigt wiederum, dass sie zu koordinierten Abhandlungen fähig sind (Sims, 1991).

Perizyten besitzen Bündel von kontraktilen Mikrofilamenten, die meist an der endothelialen Seite zu finden sind (Nehls und Drenckhahn, 1991). Forbes et al. (1977) fanden während ihren Untersuchungen an den Myocardkapillaren heraus, dass die Microtubuli 7-8 nm im Durchmesser besitzen und Intermediärfilamente sich beim Perizyten, wie bei den glatten Muskelzellen, zirkulär, dem Ausläufer entsprechend, orientieren. Der Kern der Perizyten ist meist heterochromatisch, teilweise mit einer Einziehung in Richtung Gefäßlumen (Sims, 1991). Gewöhnlicherweise sind in Kernnähe einige Golgiapparate zu finden. Die Dichte des rauen endoplasmatischen Reticulums hält sich, wie auch die Zahl der Mitochondrien, in Grenzen (Rhodin, 1968; Sims, 1991). Bei Perizyten ist die Anzahl an Ribosomen aber größer, als an Fibroblasten. Es gibt bei Perizyten auf der subzellulären Ebene eine gewisse Heterogenität, wobei man hier von „granulären“ und „nicht granulären“ Perizyten spricht (Allt und Lawrenson, 2001). Granuläre Perizyten besitzen eine Vielzahl von zytoplasmatischen Lysosomen, die bei den agranulären Perizyten fehlen (Sims,

1991). Die Perizyten im Gehirn sind ausnahmslos granuläre Perizyten. Dies scheint altersunabhängig zu sein, wie quantitative Untersuchungen beim Menschen zeigten (Farrell et al., 1987). Die Granula steht in Verbindung mit der verstärkten Phagozytose der Perizyten des ZNS (Allt und Lawrenson, 2001).



Abb. 28 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Perizyten auf einer Kapillare aus dem Grubenorgan einer Grubenotter. Zu sehen sind ein von einem Primärausläufer (schwarze Pfeile) abgehender abgeflachter Sekundärausläufer (Sternchen). Die Einengung des Gefäßes durch die Prozesse sind gut zu erkennen (weiße Pfeile). Weitere kleinere tertiäre Ausläufer sind sichtbar (Pfeilspitzen) (aus Nakano et al., 2000).

Die Perizyten der Prä- und Postkapillaren enthalten sowohl nichtmuskuläre und glattmuskuläre Myosin Isoformen, als auch glattmuskuläre und nicht muskuläre Actin Isoformen (DeNofrio et al., 1989; Herman und Damore, 1985) (Abb. 29). Ebenso enthalten sie das Intermediärfilamentprotein Desmin (Drenckhahn, 2004). Die Mengen an Tropomyosin und Myosin, die sich in den Perizyten befinden, sind signifikant größer, als in irgendeiner anderen Zellart, die nicht den Muskeln zugerechnet werden kann (Joyce et al., 1985 a, b). Bei den kleineren Kapillaren ist der Anteil an nichtmuskulären Isomyosin höher, als der glattmuskuläre Anteil bei größeren Kapillaren. Bei postkapillaren Venulen ist dies umgekehrt (Joyce et al., 1985 b). DeNofrio et al. (1989) haben in ihren Experimenten gezeigt, dass die Isoformen des muskulären und nicht muskulären Aktins entlang von „stress fibers“ angeordnet sind (Abb. 30). Muskuläres Aktin (α) wurde in den motilen Teilen des Perizyten nicht nachgewiesen, wohl aber wurden dort nicht muskuläre Isoformen (β und γ) gefunden (DeNofrio et al., 1989).

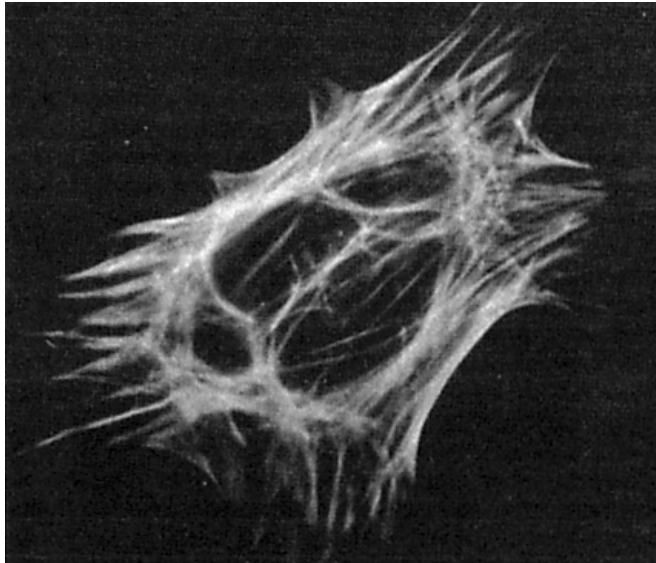


Abb. 29 Immunfluoreszenzdarstellung der Isoactine im Zytoplasma eines retinalen Perizyten (aus DeNofrio et al., 1989).

Anzahl und Verteilung der Perizyten im Gewebe

Die Verteilung der Perizyten an den Gefäßen variiert je nach Gewebe. Sie scheint jedoch nicht zufällig zu sein, sondern funktionellen Bedürfnissen zu folgen (Allt und Lawrenson, 2001; Sims, 2000). Die Anzahl der Perizyten, die bei cerebralen Kapillaren mit Blut-Hirn-Schrankenqualität gefunden werden, ist höher, als die Anzahl bei nicht barrierebildenden Kapillaren (Haseloff et al, 2005). Wobei ihre Anzahl bei den postkapillären Venulen am höchsten sein soll (Hirschi und D'Amore, 1996). Die Verteilung der Perizyten ist gewebeabhängig. Perizyten und Endothelzellen stehen sich in der Retina und dem ZNS paritätisch gegenüber, in der Lunge liegt das Verhältnis bei etwa 1:30, in der gestreiften Muskulatur bei 1:100 (Shepro und Morel, 1993). Die Anzahl und der Grad der Abdeckung der Gefäße mit Perizyten, steht im Verhältnis zur Dichtigkeit des Gefäßes und zur Höhe des jeweiligen Blutdrucks, angefangen bei Retina und Gehirn über Lunge, Skelettmuskulatur, Herzmuskel, bis zur Nebenniere (Shepro und Morel, 1993). Sie ist zum Beispiel auch in den Kapillargebieten an den unteren Extremitäten höher als in den oberen Bereichen (Sims, 2000). Auffällig ist, dass je niedriger die Turnover-Rate der Endothelzellen ist, desto größer erscheint der Abdeckungsgrad mit Perizyten. Die Werte liegen beim Herzmuskel bei 11%, in der Skelettmuskulatur bei 31%, im Gehirn zwischen 22 und 32 %, in der Retina bei 41 % (Allt und Lawrenson, 2001).

Funktionen und Eigenschaften

Die strukturelle und funktionelle Heterogenität der Perizyten (Allt und Lawrenson, 2001; Sims, 2000), welche gewebe- und gefäßabhängig ist (Hirschi und D'Amore, 1996), spiegelt ihren vielfältigen Aufgaben- und Funktionsbereich wieder.

Kontraktion

Die meist erforschte funktionelle Eigenschaft der Perizyten ist ihre Fähigkeit zur Kontraktion (Rucker et al., 2000). Schon seit Zimmermann (1923) wurde angenommen, dass sich Perizyten kontrahieren können, um so den Blutfluss zu regulieren. Da sie sich an den kleinen Gefäßen befinden, die keine glatten Muskelzellen besitzen, lag diese Vermutung schon lange nahe. Diese Hypothese zu verifizieren war jedoch schwierig (Rucker et al., 2000). Das in Perizyten gefundene Myofilament α -Aktin (Benjamin et al., 1998) und die anderen, für die Kontraktion wichtigen Komponenten, wie unter dem Abschnitt Ultrastruktur der Perizyten aufgeführt, implizierte die kontraktile Eigenschaften der Perizyten. Kelley et al. (1987) konnten in in vitro Versuchen beweisen, dass Perizyten diese Fähigkeit besitzen und sich Endothelzellen zusammenziehen können. Nehls und Drenckhahn (1991) propagierten, dass nur in Übergangsperizyten glattmuskuläres Aktin vorhanden sei, und nur diese sich kontrahieren können, da sie in ihren Versuchen mit bovinen retinalen Perizyten kein glattmuskuläres α -Aktin an den Mittkapillaren nachweisen konnten. Widersprechende Ergebnisse anderer Wissenschaftler erklärten sie mit der Verunreinigung der Versuchsansätze durch glatte Gefäßmuskelzellen oder mit mangelndem Wachstumsfaktorenzusatz (Nehls und Drenckhahn, 1991). Kamouchi et al. (2004) fanden jedoch, mit Hilfe der RT-PCR, in den Perizyten des Gehirns glattmuskuläres α -Aktin und konnten Kontraktionen nachweisen. Wobei es noch einiger Forschung bedarf, um die in vivo Verhältnisse zu klären (Kamouchi et al., 2004). Kontraktionen können in vitro mit Hilfe von Histamin und Serotonin beeinflusst werden (Sims, 1991). Es gibt jedoch noch einige andere Substanzen des Körpers, die das Dilatationsverhalten der Perizyten beeinflussen, wie *Tabelle 1* zeigt (Rucker et al., 2004). Durch die Kontraktion können der vaskuläre Durchmesser und damit die kapilläre Durchflussmenge innerhalb des Gefäßbettes gesteuert werden (Rucker et al., 2000; Shepro und Morel, 1993; Welsch, 2003). Zumindest in in vitro Versuchen konnte so gezeigt werden,

dass durch erhöhte Glucosespiegel eine Kontraktion von retinalen Perizyten verhindert werden kann, was bei der diabetischen Retinopathie eine Rolle spielen könnte (Gillies und Su, 1993).

Kontraktivität	Vasoconstriktion	Vasodilatation
	Adrenergic agonists (α -2) Cholinergic agonists Histamine Serotonin Angiotensin II Endothelin-1	Adrenergic agonists (β -2) Nitric oxide (O_2 , CO_2) Atrial natriuretic peptide
Regulationen am Endothel	Pericyte-derived factors Transforming growth factor- β -1 Basic fibroblast growth factor Vascular endothelial growth factor Angiopoietin-1 Reciprocal agents Transforming growth factor- β -1 Vascular endothelial growth factor Endothelin-1 Platelet-derived growth factor	
Makrophagen aktivität	Up-regulation	
	γ -interferon	
Noch nicht bekannt	Vasopressin Vasoactive intestinal polypeptide	

Tab. 1 Übersicht der verschiedenen, für die Perizytenfunktion wichtigen, Faktoren und deren Wirkung (nach Rucker et al., 2000).

Sekretion

Zu den Aufgaben dieser sich sowohl morphologisch, physiologisch, als auch biochemisch sehr unterschiedlich verhaltenden Zellen, gehört weiterhin die Sekretion zahlreicher vasoaktiver und autoregulierender Agonisten und die Realisierung struktureller Komponenten der Basalmembran (Shepro und Morel, 1993). Ein Mangel an

Perizyten geht mit endothelialer Hypoplasie, einem vergrößerten Kapillardurchmesser, veränderter Form und Ultrastruktur der kapillären Endothelzellen und einem veränderten Verteilungsmuster einiger Verbindungsproteine einher. Es gibt morphologische Hinweise auf eine gesteigerte transendotheliale Permeabilität (Hellström et al., 2001). Eine quantitative Analyse der Gefäßdichte, der Länge und der Anzahl der Verästelungen der Perizyten zeigten dagegen, dass bei einem Perizytenmangel keine Abweichungen vom Normaltypus entstehen. Hellström et al. (2001) konnten so die Bedeutung einer hohen Perizyten-dichte in den Gehirnkapillaren für die BHS nachweisen. Perizyten scheinen sowohl in der Embryonalentwicklung, als auch in der Knochenentwicklung und Wundheilung eine wichtige Rolle zu spielen (Rhodin, 1968). Sie produzieren und sezernieren lösliche Faktoren, die für das endotheliale Wachstum zuständig sind, wie z. B. der „transforming growth factor“ (TGF- β), der für die Gefäßpermeabilität wichtige „vascular endothelial growth factor“ (VEGF), sowie der „basic fibroblast growth factor“ (bFGF) (Balabanov und Dore-Duffy, 1998, Ramsauer et al., 2002, Dohgu et al., 2004; Dohgu et al., 2005). Perizyten sind in der Lage die Proliferation von Endothelzellen in Kultur zu unterbinden (Orlidge und D’Amore, 1987). Dafür ist das von ihnen produzierte TGF- β (Allt und Lawrson, 2001; Antonelli-Orlidge et al., 1989; Dohgu et al., 2005; Drenckhahn, 2004) und Angiopoetin verantwortlich. Diese hemmen die Angiogenese und sorgen dafür, dass der differenzierte Zustand erhalten bleibt (Allt und Lawrson, 2001; Drenckhahn, 2004). Bei in vitro Versuchen konnte für das, von den Perizyten produzierte, TGF- β des Weiteren eine funktionelle Aktivitätssteigerung für das P-Glykoprotein und die TJ und damit eine Abnahme der endothelialen Durchlässigkeit nachgewiesen werden (Dohgu et al., 2004; Dohgu et al., 2005). Die Perizyten scheinen also, durch die Produktion von TGF- β 1, aktiv zur Aufrechterhaltung und Funktion der Blut-Hirn-Schranke beizutragen (Dohgu et al., 2004, Dohgu et al., 2005). Das von den Perizyten ebenfalls sezernierte VEGF scheint dagegen einen gegenteiligen Effekt zu haben und die Permeabilität der BHS zu erhöhen (Dohgu et al., 2005; Wang et al., 1996; Wang et al., 2001). Dies geschieht offenbar dadurch, dass die Occludin Expression durch VEGF reduziert wird, wodurch es zu einer Störung im Aufbau der TJ und zu deren Rückgang in den Endothelien kommt (Wang et al., 2001). Die parakrine und juxtakrine Sezernierung von VEGF von differenzierten Perizyten wirkt aber auch als Stabilitätsfaktor und „survival“ Faktor für vaskuläre Endothelzellen (Darland et al., 2003). Eine Eigenschaft, die Alon et al., (1995) bei Versuchen mit künstlich in Regression gebrachten retinalen Endothelzellen zeigen konnten, war, dass dieser Vorgang durch

Injektionen von VEGF gestoppt werden kann. Diese Erkenntnis könnte man sich für Tumormarker zu nutze machen, weshalb wird versucht, eine Anti-VEGF Therapie zur Tumorbehandlung zu entwickeln (Zilberberg et al., 2003).

Perizyten induzieren die Expression von Occludin und der messenger Ribonukleinsäure (mRNA) des Multidrug resistance associated Protein (MRP) 6, durch Freisetzung eines Faktors aus dem angiopoietin-1 multimeric complex (Berezowski et al., 2004; Hori et al., 2004), was ihre Wichtigkeit für die Etablierung der BHS unterstreicht. Durch das an den Tie-2 Rezeptor andockende Angiopoetin-1 der Perizyten und die Produktion von TGF- β werden die Angiogenese gehemmt und Reifungsprozesse der Kapillaren mitgesteuert (Drenckhahn, 2004; Hori et al., 2004). Endothelin ist ein Faktor, der scheinbar Einfluß auf den Leitwert der Perizyten ausübt und sich damit auf die zwischenzelluläre Kommunikation der, an der Funktion der Kapillare beteiligten, zellulären Einheiten auswirkt (Kawamura et al., 2002; Spatz et al., 1995). An den Kontaktstellen zu den Endothelzellen sind sowohl Tight junctions, Adherens junctions, als auch Adhesions Plaques zu finden (Diaz- Flores et al., 1991; Allt und Lawrenson, 2001). Diese Koppelung und die entsprechenden Rezeptoren ermöglichen eine schnelle Reaktion der Endothelzelle und der Perizyten auf sekundäre Signale (second messenger) der anderen Zellen (Diaz- Flores et al., 1991). Dies scheint auch bei Entzündungsreaktionen eine Rolle zu spielen, da die Perizyten eine schirmartige (umbrella-like) Form bilden, um Lücken zwischen den Endothelzellen abzdichten, und so die Extravasation zu verhindern (Miller et al., 1992; Sims et al., 1990; Sims, 2000). Da die Substanzen, die insgesamt an der Perizytenfunktion und Signalgebung zu den umgebenden Zellen eine Rolle spielen, sehr vielfältig sind, hier eine Übersicht in (Tab. 1) (Rucker et al., 2000).

Phagozytose

Phagozytoseeigenschaften (Haseloff et al., 2005), sind vor allem bei den Perizyten des Gehirns zu finden (Sims, 1991; Allt und Lawrenson, 2001). Dies spricht dafür, dass ihnen eine gewisse Rolle in der Immunabwehr zukommt (Rucker et al., 2000). Die Perizyten scheinen als zweite Barriere gegen Stoffe, die die Endothelzellen überwunden haben, aufgestellt zu sein (Sims, 1991).

Vorläuferzellen und Stabilisierung des Endothels

Bei Gewebsreparaturen können sich Perizyten in glatte Muskelzellen der neu gebildeten Arteriolen und Venolen umbilden (Welsch, 2003). Demnach können sie auch als Vorläuferzellen von glatten Muskelzellen dienen (Rhodin, 1968). Desweiteren stehen Perizyten aufgrund zahlreicher Untersuchungen im Verdacht, als Vorläuferzellen von Osteoblasten, Fibroblasten, Chondroblasten, Mikrogliazellen und Adipozyten (Canfield et al., 1996; Chang et al., 1996; Chang et al., 1997; Diaz-Flores et al., 1991; Doherty et al., 1998; Schor et al., 1995) zu dienen und es wurde auch propagiert, dass sie sich in parasinusidale Leberzellen umwandeln können (Sims, 1991). Die Ergebnisse der in vitro Versuche von Ramsauer et al. (2002) zum Interaktionsverhalten zwischen Perizyten und Endothelzellen legen nahe, dass die Stabilisierung der Endothelzellen durch eine Anti-Apoptose Wirkung für die Endothelzellen besteht. Das Endothelzellen in Cokultur gezüchtet, mit Perizyten resistenter gegen Apoptose sind, als isoliert gezüchtete Endothelzellen, zeigt wie wichtig diese Zellen für die Genese und strukturelle Integrität der Blut-Hirn-Schranke sind (Ballabh et al., 2004).

Angiogenese Förderung

Eine weitere wichtige Rolle spielen die Perizyten bei der Bildung eines neuen Gefäßes (Rhodin, 1968), wie beispielweise am Corpus luteum (Amselgruber et al., 1999) oder für die Wundheilung (Schliengemann et al., 1991) gezeigt. Nachdem die Kapillarsprossen ausgewachsen sind, entstehen aus dem umliegenden Bindegewebe unreife Perizyten, deren Ausläufer sich den Kapillarsprossen anlagern (Tsuzuki und Sasa, 1994; Drenckhahn, 2004). Wie in vitro Versuche zeigten, sind sie bei der Sprossung der Blutgefäße, vor und an den vordersten Gefäßsprossen, zu finden (Nehls et al., 1992). Durch die Überbrückung des Raumes zwischen den gegenüberliegenden Gefäßsprossen (Nehls et al., 1992) dienen Perizyten als eine Art mechanische (Tsuzuki und Sasa, 1994) und das von ihnen sezernierte VEGF als eine chemotaktische Leitschiene für die Endothelzellen (Drenckhahn, 2004). Am Ende bildet sich dann ein durchgängiges und mit Perizyten bedecktes Endothelrohr (Drenckhahn, 2004).

Welche Interaktionen zwischen Endothelzellen und Perizyten stattfinden, wird immer noch erforscht. Geklärt ist jedoch, dass die Interaktionen zwischen Perizyt und En-

endothelzelle wichtig für die Reifung, Remodellierung und Stabilisierung des Gefäßsystems sind (Allt und Lawrenson, 2001). Dies geschieht durch Sekretion von Wachstumsfaktoren oder durch Veränderung der Extrazellulären Matrix (Allt und Lawrenson, 2001). So wurde bereits nachgewiesen, dass die Perizyten die Proliferation der Endothelzellen durch Inhibition der endothelialen Mitose regulieren (Sims, 1991; Shepro und Morel, 1993; Allt und Lawrenson, 2001). Die Heterogenität der Perizyten erfordert unterschiedliche Marker zur Identifizierung. Für die Perizyten im Bereich des Gehirns werden Antikörper gegen γ -Glutamyl-Transferase und Aminopeptidase N verwendet (Drenckhahn, 2004). Aufgrund ihrer zahlreichen Aufgaben sind Perizyten auch in zahlreiche pathologische Prozesse involviert (Shepro und Morel, 1993; Sims, 2000), was durch die Vorstellung, dass Perizyten ein Hauptmodulator für das kapilläre Wachstum sind, (Allt und Lawrenson, 2001) noch verständlicher wird. Zum Beispiel kommt es am Anfang der vaso proliferativen diabetischen Retinopathie zu einem Verlust der Perizyten, dem sogenannten Perizyten „drop-out“, wodurch die Angiogenesehemmung entfällt und es zur Gefäßaussprossung kommt (Hirschi und D'Amore, 1996, Drenckhahn, 2004). Auch der erhöhte Glucosespiegel könnte hier eine Rolle spielen, da dadurch Kontraktionen der Retinalperizyten verhindert werden (Gillies und Su, 1993). Neuere Untersuchungen zeigen, dass auch andere Faktoren in der diabetischen Retinopathie eine Rolle spielen könnten, da Angiotensin II und „advanced glycation end products“ (AGEs) zu einer Hyperexpression des AGEs Rezeptors führen, was mit der Apoptose der Perizyten enden kann (Yamagishi et al., 2005). Angiotensin II induziert also nicht nur bei der gestreiften Muskulatur, wie z. B. dem Skelettmuskel und dem Myokard die Apoptose (Burniston et al., 2005), sondern auch bei Perizyten. Weitere Krankheiten, in deren Verlauf Perizyten eine Rolle spielen, sind Bluthochdruck, Alzheimer Krankheit, Multiple Sklerose und Tumore des ZNS (Allt und Lawrenson, 2001). Perizyten stellen eine für die Konstituierung der BHS sehr wichtige zelluläre Komponente dar (Balabanov und Dore-Duffy, 1998). So wird beispielweise eine Erhöhung der parazellulären Durchlässigkeit der BHS unter hypoxischen Bedingungen teilweise mit den Veränderungen der Perizyten erklärt, da sie sehr empfindlich auf Sauerstoffmangel reagieren. Mit Sauerstoffdefizienz wird sowohl eine Formveränderung, als auch Migration induziert (Gonul et al., 2002). Sie haben sowohl die Rolle eines Regulators in der Angiogenese des Gehirns und der endothelialen Formierung der Tight junction, als auch bei der Differenzierung der Barriereigenschaften inne und leisten ihren Beitrag zur Stabilität der Gefäße (Balabanov und Dore-Duffy, 1998). Die Forschungsergebnisse legen nahe, dass die Peri-

zyten in Zusammenarbeit mit den Astrozyten die endothelialen Barrieren des Gehirnes regulieren und stabilisieren (Dohgu et al., 2005). Alles in allem kann man es sogar so sehen, dass die gesamte Mikrovaskularbiologie des Gehirns von den parakrinen Wechselwirkungen zwischen den kapillären Endothelzellen, den Perizyten und den Astrozytenfüßchen gesteuert werden (Abott, 2002). Auch erscheinen sie als Quelle sogenannter mesenchymaler Zellen innerhalb differenzierten Gewebes (Sims, 2000). Ungeklärt scheint jedoch immer noch die Frage zu sein, ob es sich bei den Perizyten um eine homologe Zellpopulation handelt, bei der jede Zelle all diese Funktionen und Eigenschaften annehmen kann oder, ob es variable Subtypen gibt (Rucker et al., 2000).

B. Mikroskopische Struktur der Blut-Liquor-Schranke

Da schädliche Substanzen auch durch den Liquor ins Gehirn gelangen können, muss dieser Durchtritt kontrolliert werden (Davson et al., 1993). Die Physikalische Barriere an der BLS ist z.B. dafür verantwortlich, dass der Proteingehalt im Liquor nur etwa 1% des Plasmaspiegels beträgt (Spector, 2000). Das System der Blut-Liquor-Schranke besteht aus zwei zusammenarbeitenden Barrieren (Rapoport, 1976). Zum einen aus TJ's der Plexusepithelzellen im Plexus choroideus, die dicht miteinander verbunden sind (Rapoport, 1976; Van Deurs und Koehler, 1979; Møllgard und Saunders, 1986; Rascher und Wolburg, 1997), zum anderen aus den abdichtenden Tight junctions in der Arachnoidea (Nabeshima et al., 1975; Vandabeele et al., 1996), die den Substrataustausch zwischen den Blutgefäßen der Arachnoidea und dem Liquor im Subarachnoidalraum einschränken (Nabeshima et al., 1975; Rapoport, 1976; Spector, 2000). Diese, an den Duralgefäßen aufgebaute Barriere ist unbedingt notwendig, da diese Gefäße, im Gegensatz zu den arachnoidalen, gefenstert sind (Nabeshima et al., 1975).

Man differenziert am Gehirn zwischen einem inneren und einem äußeren Liquorraum. Um das Gehirn in den Meningen liegt der äußere Liquorraum, der als Subarachnoidalraum (SAR) bezeichnet wird. Die Blut-Liquor-Schranke wird hier von der Arachnoidea gebildet. Die Pia mater bildet als Abgrenzung vom Hirngewebe die Liquor-Hirn-Schranke des äußeren Liquorraumes. Der innere Liquorraum setzt sich aus den Binnenräumen des Gehirns zusammen. Seine Innenauskleidung bildet mit den Ependymzellen die eine Liquor-Hirn-Schranke und im Bereich der Circumventrikulären Organen (CVO) mit den Plexus choroidei, deren Epithel eine relativ durchlässige Blut-Liquor-Schranke bildet (Abb. 8, 30).

Im Gegensatz zu den Verhältnissen an der Blut-Liquor-Schranke, ist der Übergang aus dem Liquor in das Gehirnparenchym nicht durch Tight junctions abgedichtet (Gherzi-Egea et al., 2001). Das bedeutet jedoch nicht, dass die Extrazellulärflüssigkeit des ZNS die Zusammensetzung des Liquors genau widerspiegelt, da die Substanzen das selektive Ependym überwinden müssen, welches die Ventrikelwände auskleidet (Gherzi-Egea et al., 2001). Der Austausch zwischen Subarachnoidalraum und dem angrenzenden ZNS-Kompartimenten wird durch die Glia limitans, die außen

von der Pialen Membran abgedeckt wird, welche der Basalmembran aufliegt, stärker reglementiert, als bei den Plexus (Gherzi-Egea et al., 1996). Die Austauschoberfläche der Blut-Liquor-Schranke entspricht nur ca. dem 5000sten Teil der Blut-Hirn-Schranke (Pardridge, 1986), aber auch hier muss der Übertritt unerwünschter Substanzen aus dem Blut in den Liquor und damit in das Gehirn unterbunden werden. Diese Gebiete sind deshalb von speziellen Ependymzellen umhüllt.

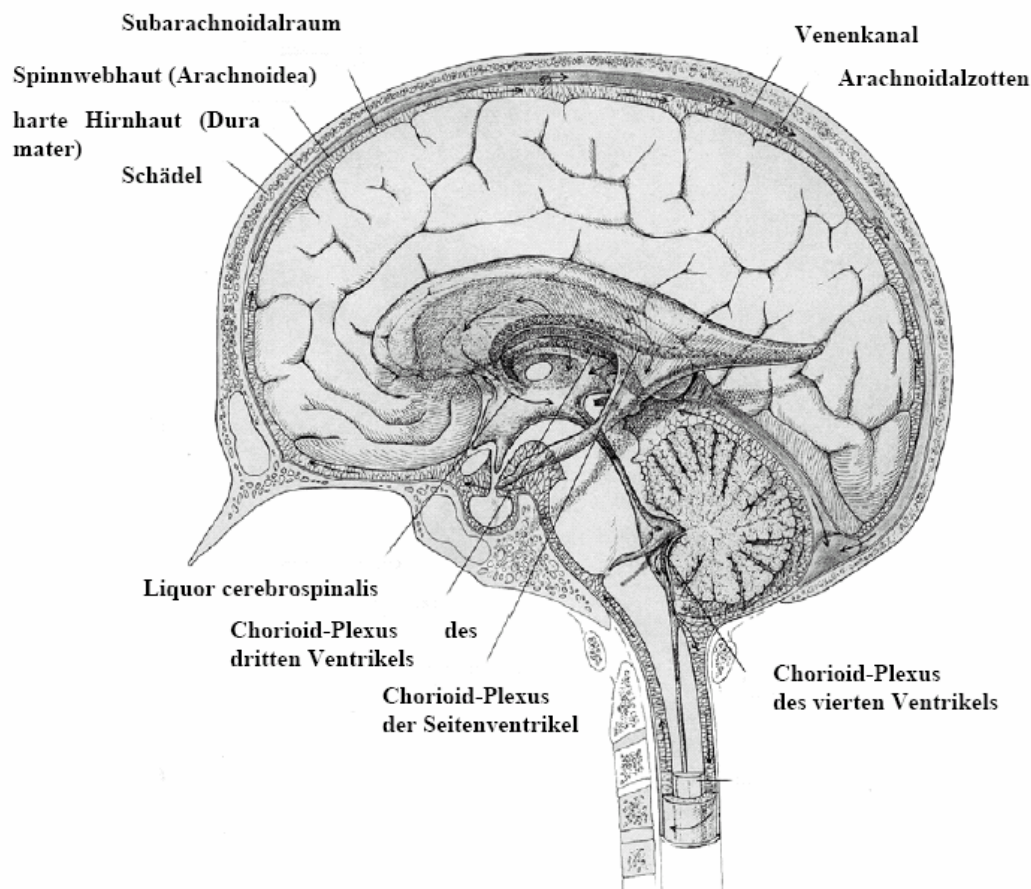
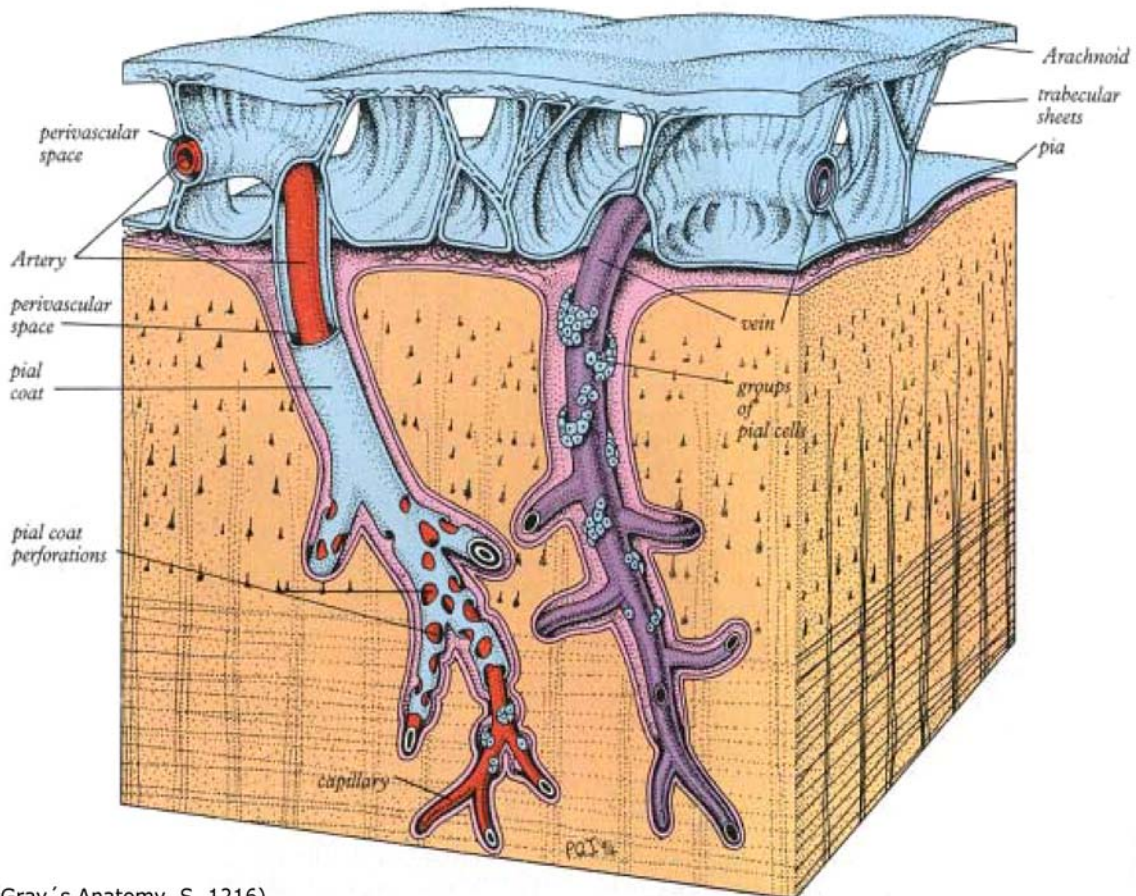


Abb. 30 Übersichtszeichnung der Liquorräume des Gehirns (nach Spector und Johanson, 1989).

1. Äußerer Liquorraum mit Meningen

Der äußere Liquorraum liegt als Cavum subarachnoidale im Maschenwerk zwischen Arachnoidea und Pia mater. Die Arachnoidea und das subdurale Neurothel etablieren die Barriere zwischen extracerebralem und cerebralem Gewebe (Dermitzel,

1975). Die Pia mater grenzt den äußeren Liquorraum zum Gehirngewebe ab und umgibt die Blutgefäße umschneiden die Gefäße eine Übergangsstrecke in das Gehirngewebe in der die Kapillaren BHS-Qualität bekommen (Brightman, 1975) (Abb. 31).



(Gray's Anatomy, S. 1216)

Abb. 31 Der Subarachnoidalraum und seine Beziehung zu den intrazerebralen Blutgefäßen. Der Subarachnoidalraum trennt die Arachnoidea von der Pia mater, die den zerebralen Kortex bedeckt. Links ist eine in den Kortex eintretende Arterie dargestellt, die durch eine sich von der Pia mater ableitenden adventitielle Leptomeninge umhüllt wird. Diese Zellschicht wurde an einer Stelle entfernt, um deutlich die Kontinuität des perivaskulären Raumes der extra- und intrazerebralen Arterien darstellen zu können. In tieferen Hirnschichten ist die Zellscheide zunehmend gefenstert. Die rechts gezeigten Hirnvenen sind nur mit einzelnen Zellschollen umgeben, der perivaskuläre Raum geht frei in den subpialen Raum über (aus Gray, 1995).

Gehirnhäute (Meningen): Struktur und Bedeutung für die BLS

Im Bereich des ZNS existieren zwei bindegewebige Hüllen, die dem Schutz dieser empfindlichen Strukturen dienen (Bradbury, 1979). Man differenziert hier zwischen harter Hirnhaut (Pachymeninx) und weicher Hirnhaut (Leptomeninx). Die Hirnhäute (Meningen) setzen sich in den Rückenmarkskanal als Rückenmarkshäute fort.

Harte Hirnhaut (Pachymeninx)

Die als harte Hirnhaut oder Dura mater bezeichnete Struktur besteht aus einem straffen kollagenen Bindegewebe. Je nach Region sind jedoch auch zahlreiche elastische Fasern zu finden (Düring et al., 2004). Die Fasern der Dura mater liegen, ähnlich einem Geflecht angeordnet, der Schädelkalotte an und teilen sich in die periostale (pol), die meningeale (ml) und die neurotheliale Zellschicht (nl) auf (Abb. 32) (Fricke et al., 2001).

Weiche Hirnhaut (Leptomeninx)

Bei der Leptomeninx unterscheidet man grundsätzlich zwei Gewebeschichten unterschiedlicher Qualität. Die äußere, der Dura mater anliegende Schicht, wird als Spinnwebhaut (Arachnoidea); die dem Gehirn am nächsten gelegene Haut als Pia mater bezeichnet (Fricke et al., 2001).

Arachnoidea

Die Arachnoidea oder Spinnwebhaut ist eine zarte, nerven- und gefäßfreie Schicht aus lockerem Bindegewebe, die sich unmittelbar an die Dura mater anschmiegt. Sie ist mit ihr durch zottenförmige Ausstülpungen verzahnt (Düring et al., 2004). Ihre äußerste, der Dura mater anliegende Schicht, wird von hellen Epithelzellen gebildet und als Neurothel bezeichnet (Fricke et al., 2001). Das Neurothel bildet die Blut-Liquor-Schranke im Bereich der Leptomeninx, zwischen dem Kapillarblut der Dura mater und dem Liquor (Fricke et al., 2001; Böttcher, 2004). Die Arachnoidea durchspannt mit feinen Fasern (Trabeculae arachnoideae), die von ihrer innenliegenden Seite abgehen, den, zwischen den Knochen des Craniums und dem Hirngewebe liegenden und mit Liquor gefüllten, Subarachnoidalraum. Dieser schützt das Gehirn wie ein Wasserkissen vor Erschütterungen (Schindler, 2003). Der Subarachnoidalraum steht in direkter

Verbindung zum vierten Ventrikel und somit auch zu den inneren Liquorräumen (Schindler, 2003).

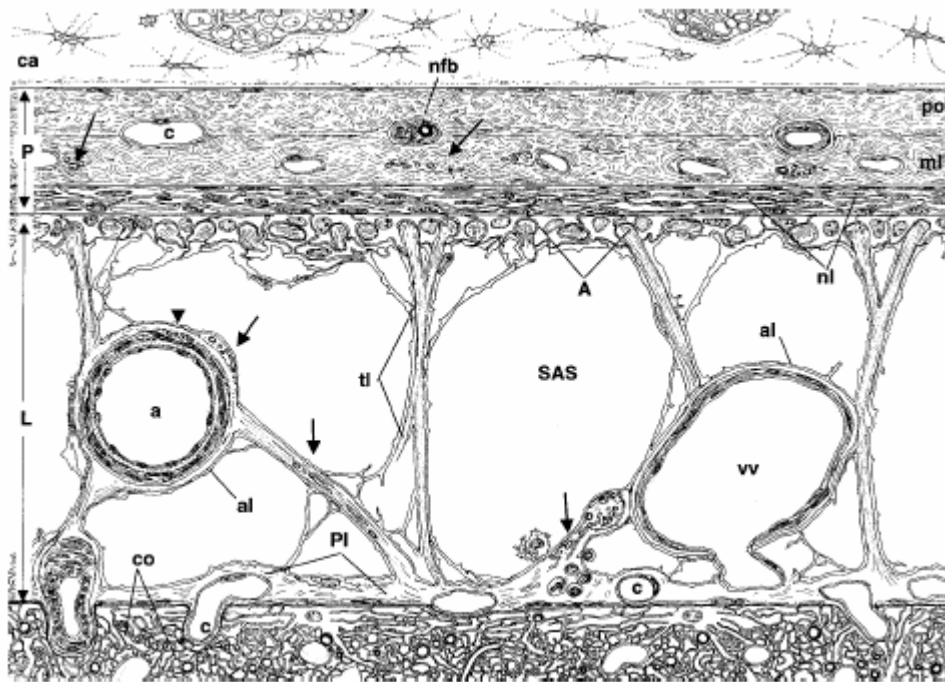


Abb. 32 Strukturelle Organisation der cerebralen Meningen. Diese bestehen aus Pachymeninx (P) und Leptomeninx (L). Die Pachymeninx teilt sich auf in die periostale Zellschicht (pol), die Meningeale Schicht (ml) und die neurotheliale Zellschicht (nl). Die Leptomeninx teilt sich in die äußere und innere arachnoidale Zellschicht im Subarachnoidalraum (SAS) und die Pia mater mit ihren Subkomponenten trabekuläre Leptomeninx (tl) adventitielle Leptomeninx (al) und piale Leptomeninx auf (PI). Die Lamina interna der Schädelkalotte, das Neuropil des Cortex (co) sind ebenfalls dargestellt. Weitere Strukturen: Arterie (a), Vene (vv), Kapillare (c), Nervenfaserbündel (nfb). Die Pfeile markieren die Topographie der verschiedenen Nervenenden in der Pachymeninx und innerhalb der verschiedenen Schichten der Leptomeninx. Die Pfeilspitzen deuten auf die efferente Innervation der cerebralen Aterien (aus Fricke et al., 2001).

Pia mater

Die Pia mater ist eine feine von Gefäßen durchwachsene Bindegewebsmembran, bei der zwei Schichten unterschieden werden. Die äußere Pia mater Schicht wird als Lamina externa piae oder piale Leptomeninx bezeichnet (Fricke et al., 2001). Sie ist je nach Lokalisation unterschiedlich stark ausgebildet. Sie besteht aus einem weitmaschigen Netz von dicken Kollagenfibrillenbündeln, dem vereinzelt Bindegewebs-

zellen, die hier als Meningealzellen bezeichnet werden, eingelagert sind. Die Lamina externa nimmt Verbindung mit der Adventitia der Großen Hirngefäße auf oder ersetzt diese sogar als adventitielle Leptomeninx, wobei sie den Gefäßen ein Stück weit in die Hirnsubstanz folgt und dort so den Virchow–Robin–Raum bildet. Die Laminae externaе piaе besitzt ein eigenes Kapillarbett. Die Endothelzellen besitzen BHS Qualität sind also nicht fenestriert (Düring et al., 2004). Die innere Laminae internaе piaе besteht aus einem lockeren Geflecht von Kollagenfibrillen, in dem sich vereinzelte bindegewebige leptomeningeale Zellen befinden. Die innere Schicht der Pia mater liegt der, von den Astrozytenendfüßchen gebildeten, Membrana limitans glialis superficialis direkt an (Düring et al., 2004).

2. Innere Liquorräume

Aus inneren Hohlräumen der embryonalen Gehirnanlage entstehen während des Wachstums die komplex ausgebildeten Ventrikel. Es sind dies die Seitenventrikel I und II, die sich im Telencephalon befinden und paarig angelegt sind (Netsky und Shuangshoti, 1975). Der III. Ventrikel ist im Diencephalon lokalisiert und ist unpaar angelegt. Der mit ihm über den Aquaeductus cerebri verbundene IV. Ventrikel liegt im Rhombencephalon und ist ebenfalls nicht paarig angelegt (Netsky und Shuangshoti, 1975). Dieser letzte Ventrikel verjüngt sich in Richtung Rückenmark und wird dann zu dessen Zentralkanal. In bestimmten Wandabschnitten sind Zotten ausgebildet, die in das Lumen hineinragen. Dies sind bindegewebige Strukturen einer dichten Gefäßansammlung – die sogenannten Plexus choroidei.

Die Auskleidung der Binnenräume des ZNS ist regional unterschiedlich. Der größte Teil der Fläche ist mit Ependymzellen ausgekleidet, die die Liquor-Hirn-Schranke bilden. Im Bereich der Circumventrikulären Organe (CVO) liegt ein modifiziertes Ependym vor, das einen erleichterten Stoffaustausch ermöglicht. Die in die Ventrikel hineinragenden Plexus choroidei, die ebenfalls werden ebenfalls zu den CVO gezählt werden, sind von einem speziellen Epithel bedeckt, das hier eine Blut-Liquor-Schranke bildet.

Ependym

Sowohl die Ventrikelwände, als auch der Zentralkanal des Rückenmarkes, sind von einem lückenlosen einschichtigen Epithel ausgekleidet, dass aus schuppenförmigen oder kubischen bis hochprismatischen Zellen besteht (Bruni et al, 1983; Bruni, 1998) (Abb. 33A). Diese Zellen werden als Ependymozyten bezeichnet und bilden ein kubisches bis hochprismatisches Epithel (Bruni, 1998; Tennyson, 1975). Die Gesamtstruktur bezeichnet man als Ependym. Ependymozyten gehen aus dem Neuroepithel hervor und werden schon kurz nachdem sich die Neuralplatte formiert hat, gefunden (Korr, 1980; Sarnat, 1998). Sie bilden ventral und medial der Neuralplatte ein längliches säulenförmiges Gebilde in den Regionen, in denen später das Rückenmark, Rhombencephalon und Mesencephalon liegen (Sarnat, 1998). Die Generierung der Ependymzellen im Rattengehirn geht von kaudal nach rostral vor sich (Bruni, 1998). Die ependymale Differenzierung erfolgt in präzisen zeitlichen Abfolgen. Dies ist nötig, da eine zu frühe Differenzierung zu einem mitotischen Stillstand der neuronalen Entwicklung führen würde, da an diesen Stellen keine Neuroblastenbildung mehr erfolgen würde (Sarnat, 1998). Im Gegensatz zu der Adultform scheinen fetale Ependymzellen sekretorische Fähigkeiten zu besitzen (Gould et al., 1990; Sarnat, 1998). Man rechnet sie den Gliazellen zu. Apikal besitzen die Ependymozyten zwischen 30 und 60 Kinozilien und sehr viele Mikrovilli (Bruni, 1974) (Abb. 33A, B). Die Basalseite der Zellen liegt der durch die Astrozytenfüßchen gebildeten Schicht an. Die Zellen sind seitlich über Nexus, Desmosomen und eher in der Nähe der Zellspitze liegenden Adherens junctions verbunden und durch laterale Falten verzahnt. Auch sollen mannoselbindende lösliche Lectine, die zwischen den Zellen eingelagert sind, eine Rolle bei der Zellhaftung spielen (Düring et al., 2004). Zwischen den Ependymozyten gibt es keine TJ. So kann in diesen Arealen ein relativ ungehinderter Stoffaustausch stattfinden. Unter der Ependymzellschicht wird eine aus Matrixzellen, Astrozyten und deren Fortsätze, sowie Mikroglia und Gefäßen, eine subependymale Gewebepalte gebildet. Eine Basalmembran ist hier nicht zu finden (Brightman, 1975). Eine Sonderform der Ependymozyten sind die Tanyzyten, die insbesondere im Bereich der circumventrikulären Organe liegen (Johnson und Gross, 1993; Bruni, 1998).

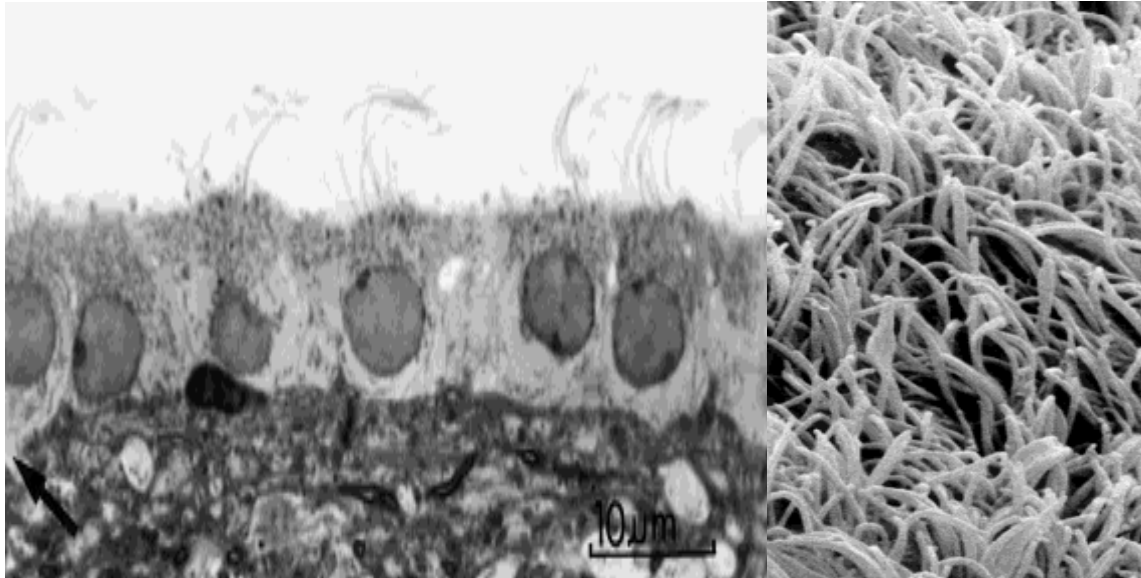


Abb. 33A (linkes Bild) Zeigt die hochprismatische Form der Ependymzellen (Pfeil zeigt hier auf einen basalen Ausläufer, der meist fehlt) im IV. Ventrikel einer Ratte (aus Bruni et al., 1983).

Abb. 33B (rechtes Bild) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des Ependyms aus dem III. Ventrikel eines Kaninchens, zeigt die vielen Zilien an der ventrikulären Oberfläche (aus Bruni et al., 1977).

Tanyzyten

Bei den Tanyzyten wird zwischen dem ventrikulären und dem zirkumventrikulären Typ unterschieden. Die zirkumventrikulären Tanyzyten liegen im III. und IV. Ventrikel über den CVO. Sie besitzen keinen Kinoziliensaum, sondern sind entweder komplett zilienlos oder besitzen nur eine solitäre Kinozillie. An den Basalseiten der Zellen sitzen Ausläufer, die bis zu einem halben Millimeter lang werden können. Mit diesen Ausläufern nehmen die Zellen Kontakt zum perivaskulären Raum auf und umschließen die fenestrierten Kapillaren (Abb. 34). Die Tanyzyten sind ventrikulwärts durch Zonulae occludentes oder TJ miteinander verbunden und bilden so die BLS aus. Mit ihren basalen Ausläufern können sie toxische Stoffe, die aus den Kapillaren ausgetreten sind, aufnehmen und unschädlich machen (Kugler, 2004). Eine Besonderheit findet sich im subependymalen Raum. Hier sind undifferenzierte Zellen und einzelne Neuronen zu finden. In vitro Versuche zeigten, dass aus diesen undifferenzierten

Zellen, je nachdem, welchen Differenzierungsstoffe man beimengt, sich sowohl Neuronen, als auch andere Zellen entwickeln können (Kugler, 2004).

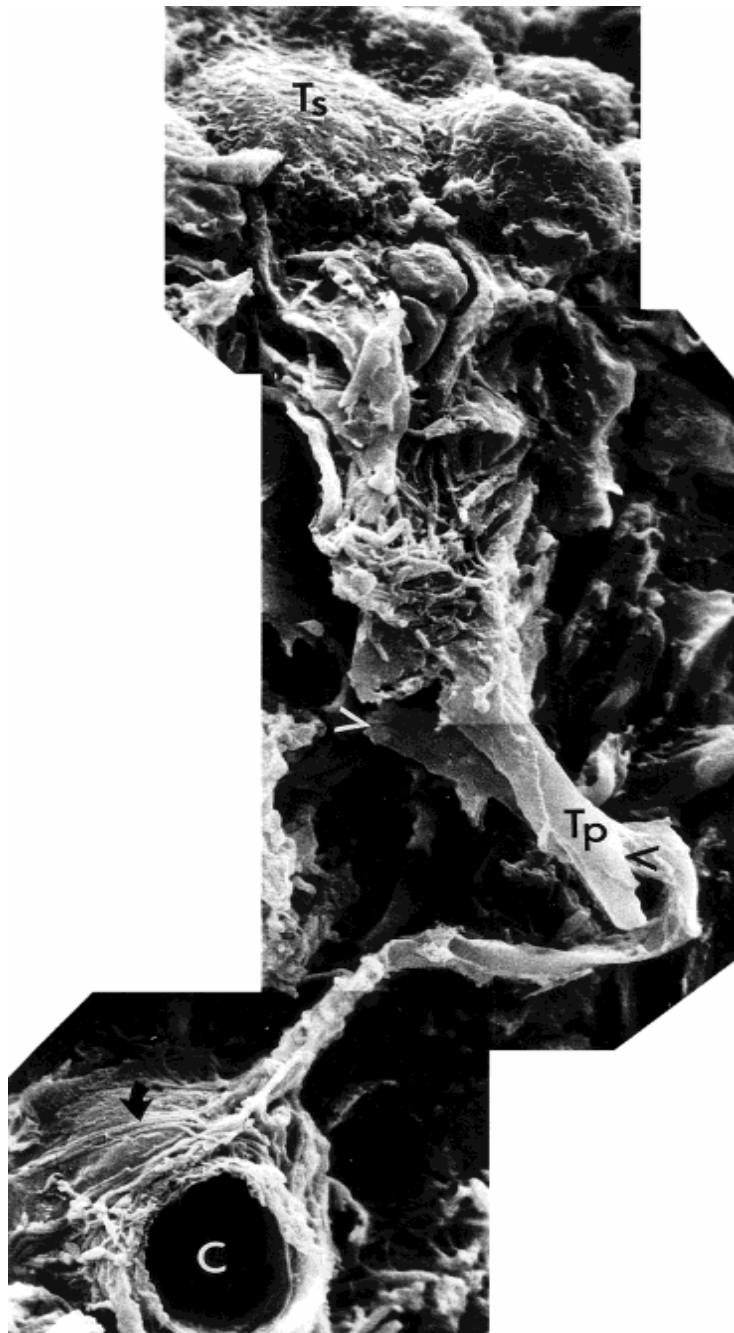


Abb. 34 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines ependymalen Tanyzyten. Erkennbar sind die nicht mit Zilien besetzte luminalen Oberfläche (Ts) und der einfache, unverzweigte Ausläufer (Tp), der sich am Ende aufzweigt und eine Kapillare (C) umschließt (Pfeile) (aus Bruni, 1974).

Circumventrikuläre Organe

Im Gehirn gibt es Bereiche, denen ein dichtes Kapillarendothel fehlt; sogar fehlen muss, um deren Funktion zu gewährleisten. Diese Areale sind die circumventrikulären Organe (CVO), wobei die Strukturen, die zu den CVO gezählt werden, funktionell sehr unterschiedlich sind (siehe unten). Im Gegensatz zu den Haargefäßen im ZNS, die dicht sind, sind die Kapillaren der CVO, wie die Kapillaren in der Peripherie, gefenstert (Kirsch et al. 1978). Dadurch wird bestimmten Stoffen, wie den hypothalamischen Hormonen ermöglicht, unter Umgehung der BHS, ins Blut zu gelangen. Es erlaubt auch anderen Stoffen, die die Schranke nicht überwinden können, trotzdem Einfluss auf bestimmte Vorgänge im Gehirn zu nehmen, beispielweise Zytokine und Angiotensin II, die für einen Anstieg des Corticotropin-Releasing Hormones an den CVO verantwortlich sind (Ganong, 2000). Die Ausschüttung der Schilddrüsenhormone wird ebenfalls hier gesteuert. Der Hormonspiegel wird erfasst und gegebenenfalls das „Thyrotropin-releasing Hormon“ freigesetzt (Ganong, 2000). An diesen Bereichen kommunizieren ebenfalls, durch Krankheiten entstehende, Pyrogene mit dem ZNS. Dies führt zu Fieber (Densson und Ferguson, 2003). Die CVO scheinen ebenfalls einen Beitrag zur Homöostase im Körper zu leisten (Johnson und Gross, 1993).

Zu den CVO zählt man folgende Strukturen (Netsky und Shuangshoti, 1975, Davson et al., 1993, Ganong, 2000):

Im Bereich des III. Ventrikels:

- Neurohypophyse mit Emanentia mediana,
- Organum vasculosum laminae terminalis,
- Organum subfornicale,
- Glandula pinealis,
- Organum subcommissurale.

In der Region des IV. Ventrikels:

- Plexus choroideus und
- Area postrema.

Die hier produzierten Hormone sollen möglichst ungehindert über das Blut an ihre Erfolgsorgane gelangen können, z. B. Hypophysenhormone, epiphysiale Hormone. Auch das Brechzentrum liegt anatomisch gesehen benachbart der, zu den CVO ge-

zählten, Area postrema und muss auf Veränderungen in der Blutzusammensetzung reagieren und deshalb auch Zugriff auf „ungefiltertes Blut“ nehmen können (Davson et al., 1993).

Plexus choroidei

Die Plexus choroidei sind Adergeflechte in umschriebenen Wandabschnitten der Ventrikel, deren strukturelle Grundlage die Pia mater ist und die von einem kubischen bis niedrigen Epithel überzogen sind, deren apikale Microvilli in Richtung des Liquors zeigen (Bradbury, 1979; Rapoport, 1976; Schindler, 2003). Anatomisch gesehen bilden sowohl Subarachnoidalraum, als auch die circumventrikulären Organe mit den Plexus choroidei, die Blut-Liquor-Schranke (Brightman, 1975; Davson et al., 1993). Unter dem Mikroskop sind einige Unterschiede bei den Blutgefäßen dieser Bereiche zu erkennen. Die Blutgefäße am Plexus (Tennyson und Pappas, 1968) sowie den CVO sind gefenstert. Die Ependymzellen sind bereits lichtmikroskopisch von den Plexusepithelzellen zu unterscheiden und gehen übergangslos in diese über (Brightman, 1975).

In jeder Ventrikelwand befindet sich in einem umschriebenen Bereich ein Plexus choroideus (PC), der sich als Gefäßknäuel darstellt und unter anderem sehr wichtig für die Liquorproduktion ist (Rapoport, 1976; Brightman, 1989; Schindler, 2003). Man geht davon aus, dass etwa $\frac{2}{3}$ des produzierten Liquors hier sezerniert wird und nur $\frac{1}{3}$ des Liquors von den Gehirnkapillaren. Dies erklärt, warum die Dichtigkeit der interendothelialen Tight junctions des Plexus choroideus nicht so hoch ist, wie bei den endothelialen Tight junctions des cerebralen Kapillarendothels. Einige Substanzen können hier in niedrigen Raten parazellulär passieren (Gherzi-Egea et al., 2001). Aber nicht nur für die Liquorproduktion sind die PC wichtig, sondern auch für die chemische Homeostasis des Liquors und den Aufbau der Barriere zwischen Liquor und Blut (Lippoldt et al., 2000). Bei zahlreichen Tierarten sind die Plexus choroidei untersucht und verglichen worden und sehr viele Ähnlichkeiten wurden charakterisiert (Beispielweise frühe Publikationen von: Brightman, 1968, 1975; Cancilla et al., 1966; Case, 1959; Dempsey und Wislocki, 1955; Dohrmann, 1970 a, b; Dohrmann und Bucy, 1970; Dohrmann und Herdson, 1970; Maxwell und Pease, 1956, Millen und Rogers, 1956, Pappas und Tennyson, 1962; Tennyson und Pappas, 1964; van Bremen und Clemente, 1955). Sowohl in den Epithelzellen des Plexus

choroideus als auch in den Ependymzellen der Ventrikelwände werden Moleküle gebildet, welche für Tight junction und Adherens junctions charakteristisch sind (Lippoldt et al., 2000).

Die **Epithelbekleidung der Plexus choroidei** ist ein Monolayer kubischer Zellen, die als Lamina epithelialis choroidea bezeichnet werden (Serot et al., 2001) (Abb. 35). Eine hier vorhandene Basallamina grenzt das Epithel von der gefäßführenden Tela choroidea ab (Serot et al., 2001) (Abb. 36).

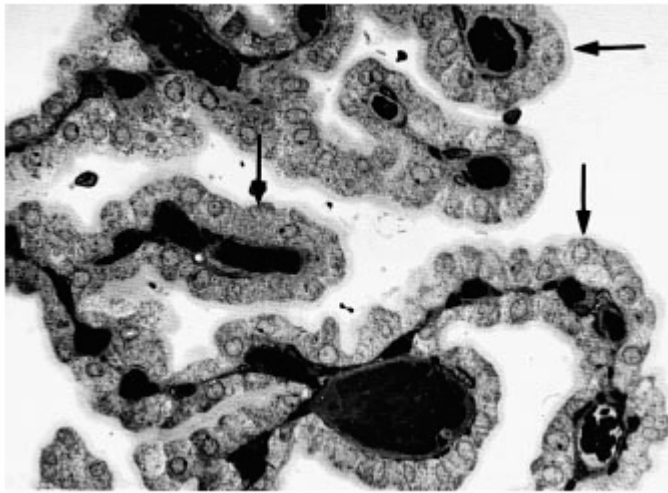


Abb. 35 Semidünnschnitt durch den Plexus choroideus einer Ratte. Die Pfeile deuten auf die kubischen Epithelzellen (aus Serot et al., 2001).

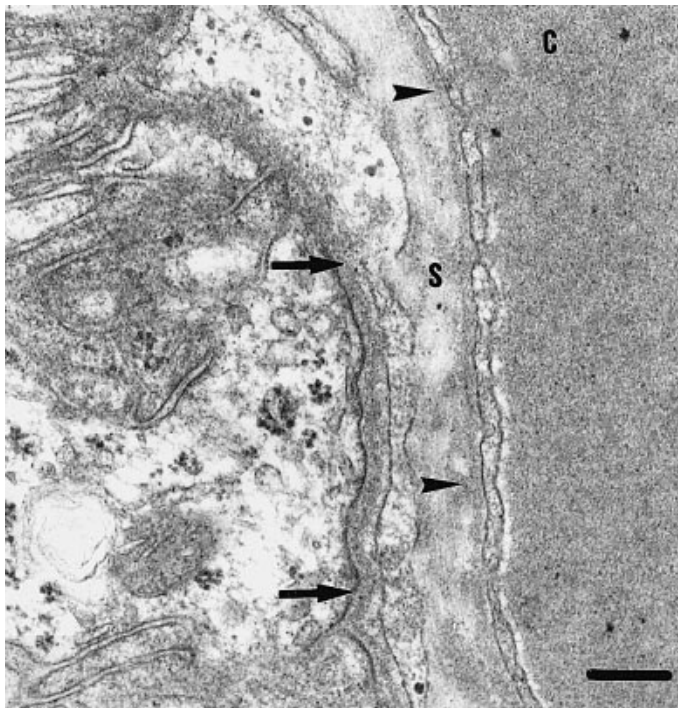


Abb. 36 Transmissionselektronen mikroskopische Aufnahme eines Transversalschnitts durch den Plexus choroideus einer Ratte. Zu sehen sind eine Kapillare (C) deren Endothelzellen (Pfeilspitze) und Plexusepithelzellen (Pfeile), Stroma (S); Balkenlänge 200 nm (aus Serot et al., 2001).

Diese Schichten bilden Zotten, die sich in das Lumen vorstülpen. Im Bindegewebe der Zotten sind sowohl fixe und mobile Bindegewebszellen, als auch Bündel kollagener, elastischer und retikulärer Faser zu finden. Die Blutgefäße sind hier meist gefenstert (Engelhardt, 2003).

Im Bereich des PC besteht die Ventrikelwand aus nur zwei Schichten. Zum Einen aus der Tela choroidea, einer bindegewebigen Schicht, die eine spezielle Form der Pia mater darstellt; zum Anderen aus dem Plexusepithel, einem spezifisch differenzierten Ependym, das durch TJ abgedichtet ist (Abb. 37, 38) (Düring et al., 2004).

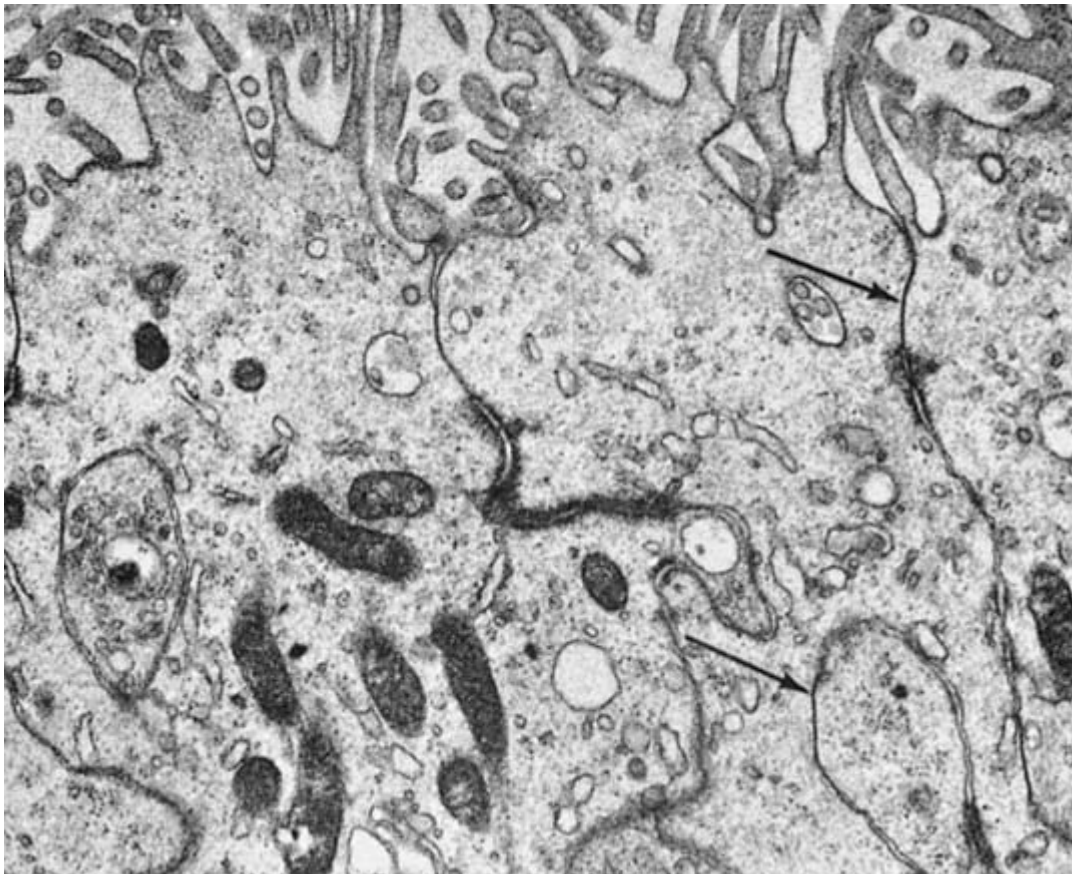


Abb. 37 Elektronenmikroskopische Aufnahme des cerebralen Ependym einer Maus. Die Ependymzellen miteinander über Tight junctions verbunden (Pfeile) (aus Brightman und Reese, 1969).



Abb. 38 Die elektronenmikroskopische Aufnahme verdeutlicht, wie gut die Tight junctions den Raum zwischen den Ependymzellen abdichten. Maus: X 310.000 (aus Brightman und Reese, 1969).

Die besonderen **Funktionen** der Plexus choroidei erklären sich daraus, dass sie besondere Strukturen in der Ventrikelwand sind, die eine Schnittstelle zwischen den Flüssigkeiten Blut und Liquor bilden (Gherzi-Egea und Strazielle, 2001). So sind sie z. B. an der Nährstoffversorgung, der Signalweiterleitung und der Pufferung der extrazellulär Flüssigkeit beteiligt (Haselbach et al., 2001), tragen aber auch zum mechanischen Schutz des Gehirnes bei (Gherzi-Egea und Strazielle, 2001).

Alle Mechanismen, die an der Homöostase beteiligt sind, sind mit Energieverbrauch verbunden, wobei sich die Mengenverhältnisse, der daran beteiligten Enzyme, mit zunehmenden Alter ändern, da sich die Energiegewinnung vermehrt in eine anaerobe umstellt (Preston, 2001). Da die Anreicherung mit Sauerstoff im Bereich des PC sehr hoch ist, muss das Gewebe durch einige antioxidative Mechanismen vor Radikalen geschützt werden (Preston, 2001; Tayarani et al., 1989). So ist beispielsweise im Gewebe der PC's sehr viel Transferrin zu finden, ein Transportprotein, das dem Eiseninflux in das Gehirn reguliert, um dieses vor freien Radikalen, die bei der Fenton Reaktion auftreten können, zu schützen (Preston, 2001). Auch die Versorgung und Anreicherung des Liquors mit Ascorbinsäure, welches das im Liquor am weitesten verbreitete hydrophile Antioxidans ist (Lonnrot et al., 1996; Alho et al., 1998) und dessen Konzentration etwa um Faktor 4 über dem Plasmaspiegel liegt (Lonnrot et al., 1996), muß gewährleistet sein.

IV. Molekulare Struktur der Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke

Schon 1992 hat Smith (1992) beschrieben, dass sich das Wissen über die Blut-Hirn-Schranke praktisch explosionsartig vermehrt hat und viele neue in vivo und in vitro Methoden entwickelt wurden, um mehr über die Charakteristiken dieser Barriere herauszufinden und diese Entwicklungen schreiten immer noch weiter voran. Die Permeabilitätseigenschaften und die chemisch physiologischen Aufnahmen von verschiedenen Stoffen, wurden in in vivo Studien mit Hilfe von unterschiedlichen Injektionen in der Peripherie, Single Pass Extraktion und Hirn-Perfusionstechniken erstellt, durch welche viele der grundlegenden Erkenntnisse über die Transportphysiologie an der Barriere gemacht werden konnten (Smith, 1992).

A. Molekulare Struktur der Tight junctions

Der genaue molekulare Aufbau der TJ ist bisher noch nicht restlos geklärt (Lohmann, 2003). Zur Beschreibung ihrer molekularen Struktur und ihrer Funktionsweise existieren drei verschiedene Modellansätze (Abb. 39).

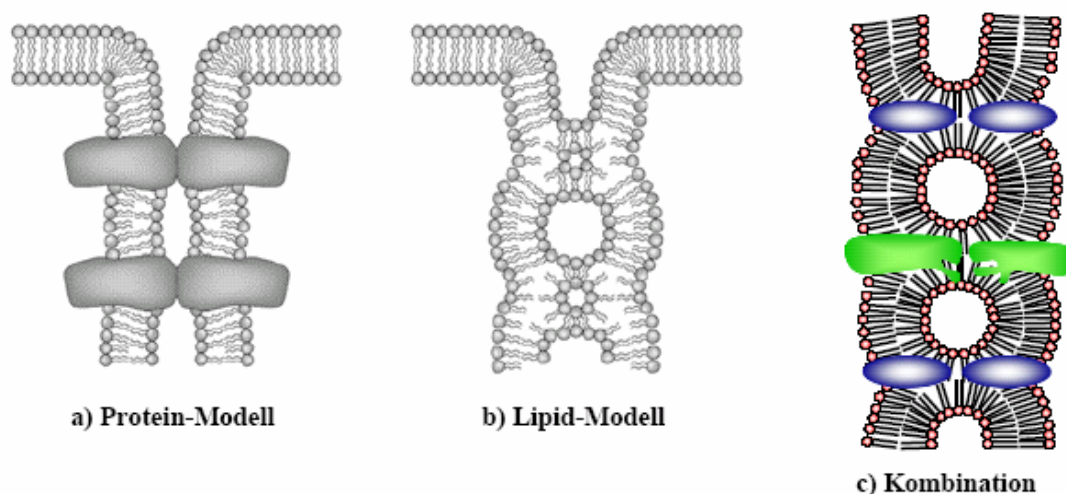


Abb. 39 Gegenüberstellung der verschiedenen Modellansätze der TJ-Struktur (aus Lohmann, 2003).

Beim Lipid-Modell (Abb. 39b) werden die Zonulae occludentes als invers-micellare, zylindrisch aufgereihte Lipiddomänen, die durch Fusion der exoplasmatischen Membranhälften der gegenüberliegenden Zellen entstehen, angesehen (Kachar und Reese, 1982). Fluoreszenzmarkierte Lipide die, wie in photobleaching Experimenten erkennbar, zwischen den exoplasmatischen Membranhälften benachbarter Zellen wandern können, sind mit Hilfe dieses Modells erklärbar (Grebekammer und Galla, 1994). Die Entdeckung immer neuer TJ-assoziiierter Proteine scheint das Protein-Modell, welches von van Meer und Simons (1986) (Abb. 39a) vorgestellt wurde, zu bestätigen. Die im EM sichtbaren Stränge wurden als Transmembranproteine angesehen, die den Interzellularspalt durchziehen und die Membranen durch nicht kovalente Wechselwirkungen verbinden. Eine andere Hypothese ist die eines gemischten Lipid-Protein-Modells (Wegener und Galla, 1996) (Abb. 39c). Hier sollen die TJ-assoziierten Proteine die Bildung von invers-micellaren hexagonalen Lipidphasen induzieren und erhalten. Inzwischen wird allgemein davon ausgegangen, dass die TJ Stränge hauptsächlich aus Proteinen bestehen (Bazzoni und Dejana, 2004; Grebekammer und Galla, 1994; Wegener und Galla, 1996).

1. Tight junction assoziierte Proteine

In der Transmissionselektronenmikroskopie erscheinen die TJ als dichte Zell zu Zellkontakte. In Gefrierbruchaufnahmen sieht man, dass die Kontakte fortlaufende Reihen von Transmembranproteinpartikel bilden (Anderson, 2001) (Abb. 18).

Die Barriere wird dort gebildet, wo die Reihen in den Extrazellularraum eintauchen und auf die gegenüberliegende Reihe der benachbarten Zellen trifft. Bisher ist noch unklar, ob die benachbarten Proteinreihen der TJ -ähnlich einem Reisverschluss- ineinander greifen, oder ob sie „Kopf an Kopf“ aneinander liegen (Anderson, 2001). Aber in diesem Mechanismus liegen wohl die besonderen Eigenschaften dieser Barriere begründet (Anderson, 2001). Die Reihen haben in allen Geweben einen Durchmesser, quer zur Laufrichtung, von ca. 10 nm und einen Reihenabstand von 18 nm (Anderson, 2001). Grundsätzlich kann man bei den Proteinen, die die TJ aufbauen und an deren Funktion beteiligt sind, vier Gruppen unterscheiden. Die Transmembranproteine, die peripheren intrazelluläre Proteine, die das Rückrat der TJ bil-

den, eine große Anzahl von Signalproteinen und Proteine, die den Vesikeltransport regulieren (Anderson, 2001) (Abb. 40).

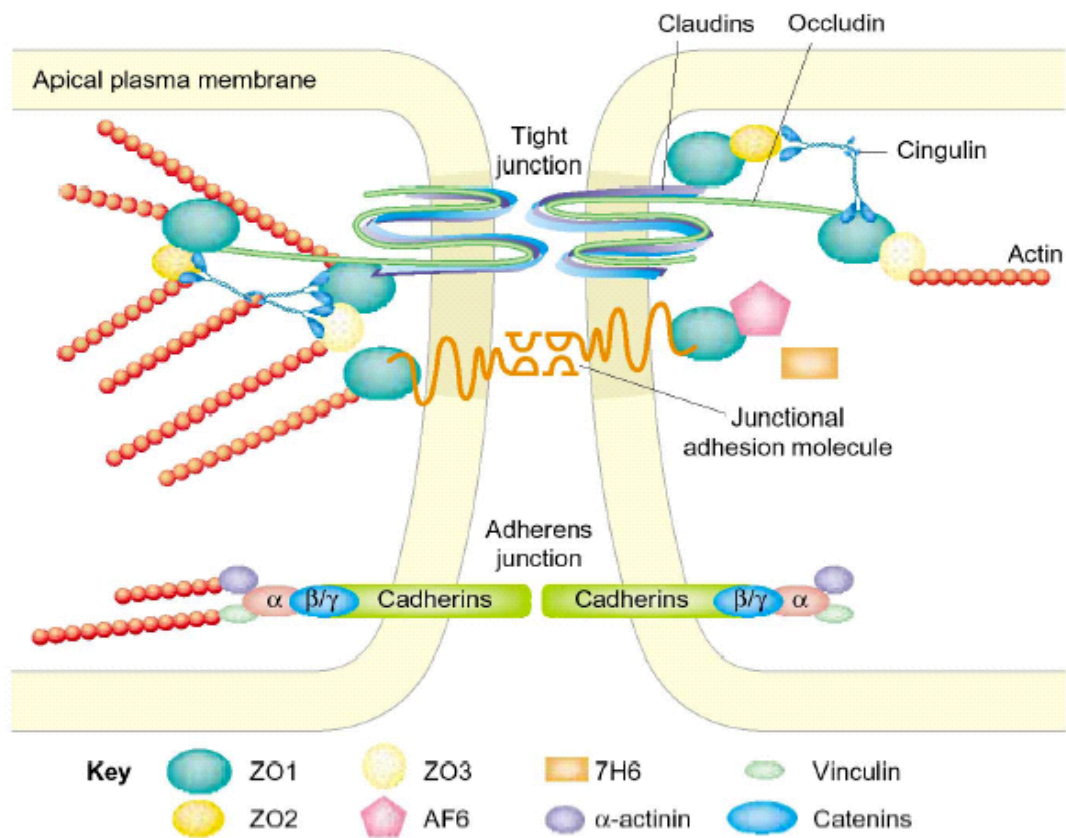


Abb. 40 Grafik verdeutlicht die Anordnung der Proteine an den Tight junctions und Adhärenz junctions. An den TJ sind die Transmembranproteine, das Occludin, die Claudine, das JAM, die intrazellulären Proteine ZO-1, ZO-2, ZO-3 und Cingulin. An den Adhärenz junction Cadherine und Catenine (aus Huber et al., 2001).

Die Transmembranproteine

Zu den Tight junction assoziierten Transmembran- oder integralen Membranproteinen werden drei bisher bekannte Vertreter gezählt; das Occludin, (Furuse et al, 1993) die Claudine (Furuse et al., 1998 a, b) und eine Anzahl Proteine aus der Immunglobulin Superfamilie. Die dazugerechneten Vertreter sind z. B. das „junction adhesion molecule (JAM) (Martin-Padura et al., 1998), das so bezeichnete endotheliale zellselektive Adhäsions Molekül (Nasdala et al., 2002) und der Coxackie- sowie Adenovirusrezeptor (Cohen et al., 2001). Die hier aufgezählten Proteine besitzen je mindestens eine in der Lipiddoppelmembran verankerte Struktur.

Occludin

Occludin ist als erstes integrales Tight junction-Protein beschrieben worden (Furuse et al., 1993). Kennzeichnend für dieses etwa 65 kDa große Phospho-Protein sind die vier Transmembrandomänen, ein langer zytoplasmatischer C-Terminus und ein kürzerer cytoplasmatischer N-Terminus (Abb. 42) (Mitic et al., 2000; Lohmann, 2003). Die zwei extrazellulären Loops sind hauptsächlich aus ungeladenen, hydrophoben Aminosäuren ohne Glykosylierungsstellen aufgebaut und 44 oder 45 Aminosäuren lang (Lohmann, 2003). Die aus den Zellen herausragenden Loops und deren hydrophobe Wechselwirkung mit der Schleife der gegenüberliegenden Seite werden als Grund für die Undurchlässigkeit des Intrazellularspaltes vermutet. In einer Hypothese, die von Anderson und Van Itallie (1995) aufgestellt wurde, wird vermutet, dass diese Loops in die Zellmembran der gegenüberliegenden Zelle eintauchen. Weitere Experimente zeigten, dass Occludin eine funktionelle Komponente der TJ-Stränge darstellt und für das Abdichten (sealing) der TJ verantwortlich ist (McCarthy et al., 1996; Lacaz-Vieira et al., 1999). Der C-Terminus von Occludin besteht aus 150 Aminosäuren und nimmt intrazellulär direkt mit den TJ assoziierten Proteinen ZO-1 sowie ZO-2 Kontakt auf (Furuse et al., 1994; Itoh et al., 1999a). Der N-Terminus des Proteins ist mit ZO-3 verbunden (Hirase et al., 1997) und reguliert die transepitheliale Migration neutrophiler Stoffe. Diese Abwanderung ist weder von dem TEER noch vom parazellulären Durchlass abhängig (Huber et al., 2000). Das Occludin fungiert in der BHS als dynamisches Regulationsprotein, dessen Präsenz hier (Abb. 41) für den hohen transepithelialen Widerstand und die niedrige Permeabilität verantwortlich ist (Huber et al., 2001). Für die Regulation der Permeabilität scheint die zweite Schleife eine gewisse Rolle zu spielen (Wong und Gumbner, 1997; Medina et al., 2000). Versuche mit Occludin-defizienten Mäusen zeigten, dass die Morphologie der TJ-Stränge, ebenso wie der transepitheliale Widerstand, der hier im Darm gemessen wurde, verglichen mit dem Wildtyp, keine Unterschiede aufwies. Es gelang aber keine Zucht zwischen Occludin (-/-) Böcken und dem Wildtypweibchen. Bei Vermehrungsversuchen zwischen Occludin (-/-) Weibchen und Wildtypböcken gab es zwar Nachwuchs, dieser wurde jedoch nicht gesäugt. Histologisch wurden pathologische Veränderungen gefunden, unter anderem postnatale Wachstumsdefizite, chronische Entzündung und Hyperplasie des Magenepithels, Kalzifizierung von, mit dem Gehirn assoziierten Gefäßen und testiculäre Atrophie, um nur einige zu nennen (Saitou et al., 2000). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde von den am Versuch beteiligten Wis-

senschaftlern gefolgert, dass die Funktionen von den TJ oder auch von Occludin sehr viel komplexer sind, als bisher angenommen wurde (Wolburg und Lippoldt, 2002).

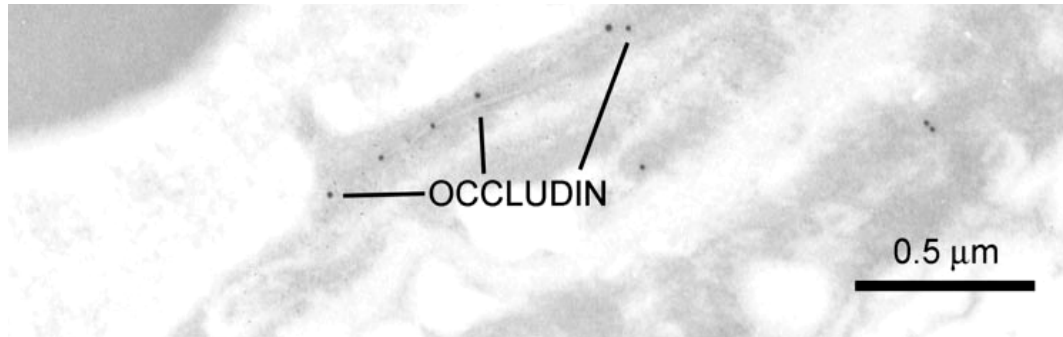


Abb. 41 Die Immunogold EM Aufnahme einer Gehirnkapillare der Ratte zeigt die Verteilung von Occludin am Gefäß (aus Cornford und Hyman, 2005).

Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass der zytoplasmatische Bereich, von in den TJ Strängen befindlichen Occludin, sehr stark phosphoryliert ist (Sakakibara et al., 1997). Diese Phosphorylierung von Occludin ist offensichtlich wichtig für die Permeabilitätssteuerung durch die Tight junctions (Hirase et al., 2001). Sowohl die Transmembran Domänen, als auch der C-Terminus von Occludin und die beiden externen Loops sind wichtig für die Regulierung der parazellulären Durchlässigkeit des Endothels (Huber et al, 2000). Mankertz et al. (2002) fanden vier unterschiedlich gespleißte Occludin mRNA Transkripte. Die exprimierten Proteine zweier dieser Varianten zeigten eine andere subzelluläre Verteilung und einen Verlust der Co-Lokalisierung mit ZO-1 in den Tight junction. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die vierte Transmembrandomäne wichtig für das Targeting von Occludin an die TJ ist, da der Verlust dieses Teils zu einer Relokation des C-Terminus in den Extrazellulärraum führte (Mankertz et al., 2002).

Claudine

Claudine sind integrale Proteine der TJ Stränge, zwischen 22-24 kDa groß und zeigen in ihrer Aminosäuresequenz keinerlei Homologie zu Occludin (Lohmann, 2003). Sie haben mit ihm jedoch 4 Transmembrandomänen gemeinsam (Abb. 42) (Wolburg

und Lippoldt, 2002). Die ersten Claudine wurden in Gewebeproben der Hühnerleber gefunden (Furuse et al., 1998b) und als Claudin-1 und Claudin-2 bezeichnet. Bis heute sind mindestens 24 verschiedene, der Claudinfamilie zugerechnete, Proteine, Claudin-1 bis 24 identifiziert worden (Morita et al., 1999b; Tsukita und Furuse, 1999). Die meisten Claudine sind relativ gewebespezifisch (Furuse et al. 1998b, Morita et al., 1999b) und liegen in den Strängen oft als Heteropolymere vor. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass Claudine nicht nur an der Zellmembran zu finden sind, sondern auch innerhalb der Zelle (Abb. 43) (Cornford und Hyman, 2005). Einige dieser Claudine sind ausschlaggebend für den Aufbau der Barrieren.

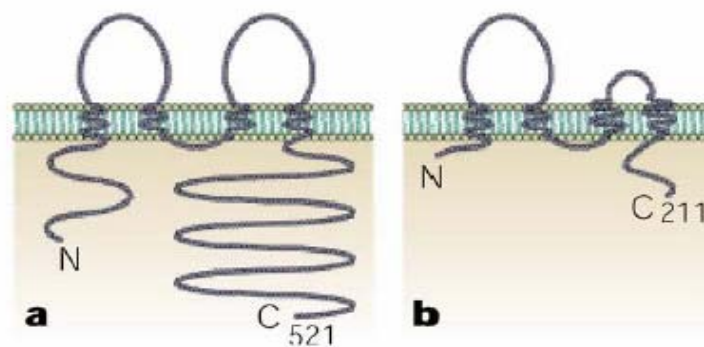


Abb. 42 Einbau von Occludin (a) und Claudin (b) in die Zellmembran. Occludin und Claudin-1 mit ihren 4 Transmembrandomänen und den intrazellulär gelegenen C- und N-Terminus (aus Tsukita et al., 2001).

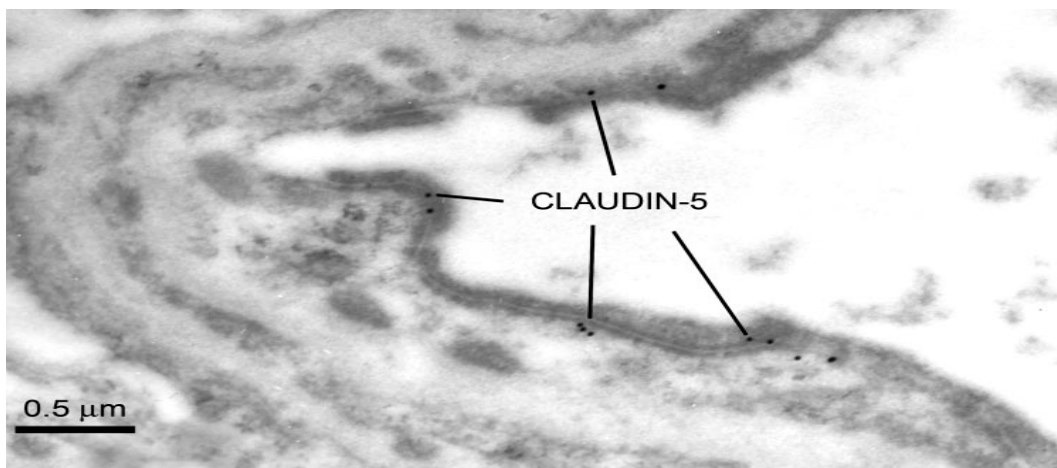


Abb. 43 Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme einer Kapillare im Rattengehirn. Das Claudin 5 ist mit Hilfe eines polyclonalen Kaninchenantiseraums detektiert worden. Das Claudin befindet sich weder an der luminalen oder abluminalen Membran, sondern intrazellulär (aus Cornford und Hyman, 2005).

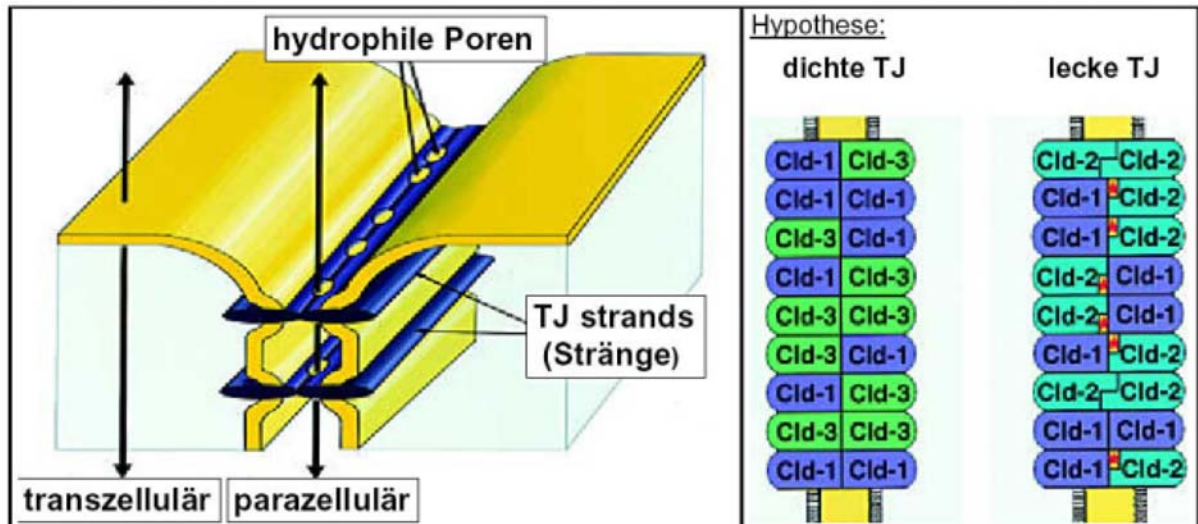


Abb. 44 Zeigt aus zwei Strängen aufgebaute Tight junction, die durch Poren (aqueous pores) durchbrochen sind und die hypothetische Claudinanordnung in diesen Poren. Dargestellt sind links die zwei Membranen der benachbarten Zelle (gelb) und die miteinander korrespondierenden TJ Stränge (blau), in die Poren (gelb) eingezeichnet sind. Links (im rechten Bild) die Claudinabfolge bei dichten, rechts bei lecken TJ. Da Claudin 1 und 2 im Gegensatz zu den anderen Vertretern nicht miteinander binden, entstehen Lücken (rote Punkte), die auch als Poren angesprochen werden können (aus Tsukita und Furuse, 2000).

So zeigten Versuche, dass Claudin-1 defiziente Mäuse kurz nach der Geburt sterben, da das Fehlen dieses Proteins in der Epidermis zu eklatanten Störungen der Barrierefunktion der Epidermis führt. Die Tiere starben an Dehydratation (Furuse et al., 2002). Inzwischen ist auch bewiesen, dass die TJ aus mehr als zwei Claudin Variationen aufgebaut sind und dass durch Knockout eines bestimmten Claudins keine Zerstörung der strukturellen Integrität der TJs hervorgerufen wird (Nitta et al., 2003). Struktur und Polarität können erhalten bleiben, obwohl die Barriereigenschaften sich stark verändern, wobei Blutungen und Ödeme nicht gesehen wurden (Nitta et al., 2003). Für die cerebralen Kapillaren ist nachgewiesen, dass am Aufbau der TJ zumindest die Claudine 12 und 5 beteiligt sind (Nitta et al., 2003). Obwohl bei Claudin 5 defizienten Mäusen mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung keine gravierenden morphologischen Veränderungen zu finden waren, starben die Mäuse innerhalb weniger Stunden post natal (Nitta et al., 2003). Claudin-2 bildet offenbar Poren in den Tight junction von Epithelzellen (Amasheh et al., 2002). Es gibt aber auch die Hypothese, dass je nach Abfolge der Claudine Bindungen entstehen, die Lücken aufweisen und so einen parazellulären Austausch ermöglichen. Solch ein Modell haben

Tsukita und Furuse (2000) vorgestellt. Danach entstehen bei gegenüberliegenden Claudin 1 und Claudin 2 der korrespondierenden Zellen Lücken, die auch als hydrophile Poren angesehen werden können (Abb. 44).

Junctional Adhesions Molecule (JAM)

Das als letztes Transmembranprotein entdeckte JAM wird der Immunglobulin-Superfamilie zugerechnet und besitzt nur eine einzige Transmembrandomäne. Zurzeit sind drei Vertreter dieser JAM-Proteine, JAM-1 bis 3, bekannt (Aurrand-Lions et al., 2000; Palmeri et al., 2000). Die JAM's sind mit Cingulin und ZO-1 verbunden und stellen damit eine Komponente des Multiprotein-Komplexes dar, der mit den TJ verbunden ist (Bazzoni et al., 2000). Das von Palmeri (2000) beschriebene „vascular endothelial junction associated molecule“ (VE-JAM) besitzt zwei extrazelluläre „immunglobulin-like“ Domänen, einen Transmembranbereich und einen relativ kurzen cytoplasmatischen Schwanz und ist sehr homolog zu den JAMs (Palmeri et al., 2000).

2. Zytosolische Proteine

a) Membran assoziierte Guanylat Kinasen (MAGUK)

Plaueproteine

Tight junction beinhalten verschiedene zytosolische Plaueproteine, die bei der Formierung und der Regulation der Barriere wichtig sind, indem sie ein Grundgerüst für verschiedene Proteine und Adhäsionsmoleküle zur Verfügung stellen (Anderson und van Itallie; 1995; Tsukita et al., 2001). Zu den gut charakterisierten Plaueproteinen gehören die Zonula occludens Proteine (ZO). Diese werden zu den membranassoziierten Guanylat Kinasen (MAGUK) gezählt (Stevenson et al., 1986; Gumbner et al., 1991; Haskins et al., 1998).

Zonula-Occludens Proteine (ZO-1, ZO-2, ZO-3)

Das erste dieser Proteine, ZO-1, wurde 1986 entdeckt (Stevenson et al., 1986). Es ist sowohl in Epithelien, als auch in Endothelien zu finden (Rubin et al., 1991, Watson et al., 1991; Hirase et al., 1997, Fletcher et al., 2005) und an der Organisation der

dort beteiligten zwischenzellularen Junctions beteiligt (Traweger et al., 2002). Watson et al. (1991) konnten am Beispiel Mensch und Ratte zeigen, dass ZO-1 eine wichtige Komponente im Aufbau der BHS ist. Am Ende des carboxyterminalen Terminus befinden sich drei Bereiche für alternatives Spleißen (α , β , γ). Bei Endothelzellen findet man beide Spleißformen $\alpha+$, als auch $\alpha-$, in der α - Domäne (Balda und Anderson, 1993). Aus Epithelien wurde ZO-2 zusammen mit ZO-1 coimmunopräzipitiert (Gumbnier et al., 1991). Das 160 kDa große Protein ist direkt mit ZO-1 verbunden (Gumbnier et al., 1991) und konnte durch Schulze et al. (1997) in endothelialen TJ nachgewiesen werden. Diese intrazellulären Proteine konzentrieren sich nahe der Plasmamembran, an der zytoplasmatischen Seite der TJ-Stränge. Die Zonulae occludens Proteine zählen zu den membrane associated guanylate kinases (MAGUK's) (Traweger et al., 2002). Sie stellen die Verbindung zwischen den integralen Plasmamembranproteinen und dem Zytoskelett her, die ZO Proteine besitzen alle Bindungsstellen für Actin, welches das Hauptprotein im Zytoskelett ist (Itoh et al., 1999b). Alle Zonula-Occludens-Proteine weisen eine Bindungsstelle zu dem COOH-Terminus der Claudine auf (Itoh et al., 1999b). Sie verbinden sich jedoch auch mit dem Carboxy-terminalen Ende des Occludins (Fanning et al., 1998; Furuse et al., 1994). Die Proteine ZO-1 und ZO-2 sind über Ihre COOH Stellen an das Zytoskelett angebunden (Fanning et al., 1998; Itoh et al., 1997; Itoh et al., 1999a). Den ZO's eigen und damit abweichend von den sonstigen Vertretern der MAGUK Familie, ist die Lokalisation in Kernnähe. Diacylglycerol scheint die Translokation von ZO-1, von Zytoplasma an die Plasmamembran, zu verursachen, wobei sich das Muster der TJ ändert und sich die Permeabilität erhöht (Balda et al., 1993).

Die **MAGI's** (MAGUKS with Inverted domain structure) stellen eine Unterfamilie der MAGUK's dar, wobei MAGI-1 (Ide et al., 1999) und MAGI-3 (Laura et al, 2002) mit den TJ assoziiert sind.

b) Plaqueproteine die nicht der MAGUK Gruppe zugerechnet werden

Zu den so bezeichneten TJ assoziierten Plaqueproteinen, die zu den nicht Membran assoziierten Guanylatekinasen zählen, gehören Cingulin, Symplekin und das 7H6 Antigen.

Cingulin

Cingulin (Citi et al., 1988) weist Bindungen mit den junctional adhesions molecule, sowie mit ZO-1, ZO-2, ZO-3 auf und ist auch mit dem Aktinomyosin-Zytoskelett verbunden. Es sorgt so für die Verankerung der TJ im Zytoskelett (Tsukita et al., 2001).

7H6 – Protein

Zhong et al. generierten 1993 einen monoklonalen Antikörper, der in der Nähe des Junctional Komplexes an ein 155 kDa großes Protein andockte. Mit 7H6 war ein neues TJ assoziiertes Protein entdeckt.

Symplekin

Das Protein 126,5 kDa große Symplekin wurde von Keon et al. (1996) charakterisiert.

c) Weitere zytoplasmatische Proteine, die mit TJ assoziiert sind

Der **Par-3-Par 6aPKC** Komplex (Izumi et al., 1998),

Pilt steht für “protein incorporated later into TJs”, besteht aus 547 Aminosäuren, hat keine Transmembrandomäne und bindet an der Peripherie an den Membranen der TJ an (Kawabe et al., 2001).

JEAP “junction-enriched and -associated protein“: besteht aus 882 Aminosäuren und ist an den TJ mit ZO-1 und Occludin verbunden (Nishimura et al., 2002).

Das Protein **MUPP-1** bindet an das COOH –Ende von Claudin 1 (Hamazaki et al., 2002).

“ZO-1-associated nucleic acid-binding protein”: **ZONAB** bindet an die SH3 Domäne von ZO-1 und ist wahrscheinlich in die Regulierung der epithelialen Barriere mit eingebunden (Balda und Matter, 2000).

“canine guanine nucleotide exchange factor“: **GEF-H1/Lfc**“ ist als Komponente der TJ mit in der Regulation des transepithelialen Widerstandes beteiligt (Benaï-Pont et al., 2003),

JACOP „junction associated coil-coil protein“: ein 148 kDa großes Polypeptid sorgt für die Verankerung des apikalen „junctional- Komplexes“ am Zytoskelett (Ohnishi et al., 2004). JACOP ist in vielen endothelialen und epithelialen Zellen gefunden worden ist aber offenbar nicht nur mit den TJ assoziiert, da es auch an Aktinfilamenten gefunden wurde, die nicht mit den TJ's verbunden waren (Ohnishi et al., 2004).

B. Molekulare Struktur der Adherens junctions

Eine Struktur die ebenfalls der endothelialen Adhesion dient, sind die basal der TJ gelegenen Adherens junctions (AJ) (Bazzoni und Dejana, 2004) (Abb. 45). Die endotheliale Organisation dieser AJs ist gewebeabhängig. Im Gehirn spielen sie nur eine untergeordnete Rolle, im Vergleich zu den gut entwickelten TJs (Rubin und Staddon, 1999). Eine wesentliche Rolle der Adherens junction liegt in der Erhaltung der zellspezifischen Eigenschaften. Sie sind mit daran beteiligt, dass bei Entzündungen die Gefäßpermeabilität zunimmt und somit den Immunzellen der Durchtritt zu den Entzündungsherden gewährt wird (Bazzoni und Dejana, 2004).

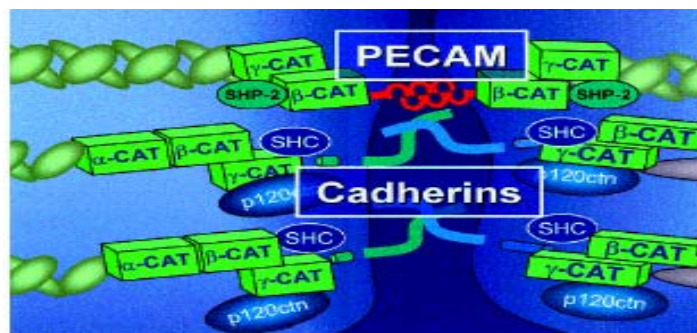


Abb. 45 Zeigt den komplexen Bau der Adhärenz junctions. Dargestellt sind die Cadherine, die verschiedenen Catenine (CAT), das PECAM und deren Verbindungen zu den Aktin filamenten (aus Mingar und Alexander, 2003).

Der molekulare Aufbau von Adherens junctions ist komplex und noch nicht in allen Details geklärt (Bazzoni und Dejana, 2004), weshalb hier nur die wichtigsten Komponenten aufgeführt werden.

a) Cadherin

Cadherine sind Proteine, die sowohl im Blut-, als auch in Lymphgefäßen zu finden sind (Bazzoni und Dejana, 2004). Die Gefäßendothelzellen besitzen ein spezifisches, nur dort zu findendes, „vaskular endothelial“ (VE) Cadherin (Dejana et al., 1995; Dejana et al., 1999). Dies ist die Hauptkomponente der AJ.

b) Catenin und andere Bindungspartner von Cadherin

Um Cadherin mit dem Actingerüst zu verbinden braucht es Verbindungspartner (Abb. 45). Eine Hauptrolle spielen hier die Catenine vor allen β -Catenin und α -Catenin (Vlemickx und Kemler, 1999, Knudsen et al., 1995, Nieset et al., 1997). Das eigentlich primär an den TJ zu findende ZO-1 ist ebenfalls schon in den frühen Entwicklungsphasen zu finden und hat ebenfalls seine Aufgabe in der Verankerung der Cadherine (Itoh et al., 1999a).

c) PECAM

Um eine Lücke zwischen den Zellen zu überwinden und mit der gegenüberliegenden Zelle Kontakt aufzunehmen, sind extrazelluläre Komponenten notwendig (Johnson-Leger et al., 2000; Muller, 2003; Newman, 1997; Newman, 1999). Der Hauptbestandteil dieser Strukturen ist das gut charakterisierte „platelet-endothelial cell adhesion molecule“ PECAM. PECAM zählt zu der Gruppe der Transmembran Immunoglobuline und ist sowohl an den interzellulären Kontakten der Endothelzellen, als auch auf Leukozyten zu finden (Muller, 2003; Newman, 1997). Es kann sowohl homophile wie heterophile Verbindungen aufnehmen (Muller, 2003).

C. Transportmechanismen an der Blut-Hirn-Schranke

1. Allgemeiner Teil über die Mechanismen des Stofftransportes an der Blut-Hirn-Schranke

Wie bereits erwähnt, muss einerseits der sehr wichtige Schutz des Gehirns vor unerwünschten Substanzen, andererseits aber auch der hohe Substratbedarf befriedigt

werden. Grundsätzlich sind die Voraussetzungen, ob ein Stoff in das Gehirn gelangen kann, zum einem von den Eigenschaften der Substanz selbst abhängig, also von seiner Fettlöslichkeit, die im Zusammenhang mit dem Molekulargewicht, der Bindung an Plasmaproteine und an Wasserstoff (Hydrogenbonding) steht, zum anderen davon, welche Transportmechanismen vorhanden sind (Padridge, 2003). An der Blut-Hirn-Schranke sind verschiedenste Transportsysteme etabliert, wobei hier den spezifischen transzellulären Mechanismen, die wohl wichtigsten funktionellen Aufgaben zukommen (Lohmann, 2003). Neuere Untersuchungen versuchen mit Hilfe der „in silico“ Methoden offene Fragen der verschiedenen Transporter und deren Funktionsmechanismen zu klären (Chang et al., 2005).

Die **passive Diffusion** (Abb. 46/2) ist die wohl einfachste Art des Transportes. Sie folgt dem Konzentrationsunterschied zwischen den Kompartimenten Blut und Gehirn. Wobei hier sowohl der transzelluläre Weg, als auch der stärker beschränkte parazelluläre Weg (Abb. 46/1) (Lohmann, 2003) zur Verfügung stehen. Dieser Transportweg steht den Atemgasen Sauerstoff und Kohlendioxid (Lohmann, 2003; Märten 2004), sowie Wasser und einigen lipophilen Molekülen wie Benzol (Märten, 2004) offen. Die passive Diffusion wird beschränkt durch die Molekülgröße. Aber auch durch seine Fettlöslichkeit, d. h., dass lipophile Stoffe leichter Membrane passieren können. So liegt die Grenze nach Saunders et al. (1999) bei einem Molekülradius von 1,2 nm und einem Molekulargewicht von ca. 5 kDa, größere Moleküle konnten nicht mehr passiv durch die Membran diffundieren. Die Energieversorgung und der Transport einiger Aminosäuren erfolgt mit Hilfe der sogenannten **erleichterten Diffusion** (Abb. 46/6). Der Name scheint etwas unglücklich gewählt, da es sich hierbei nicht um einen Vorgang handelt, der nach den Gesetzen der Diffusion abläuft, sondern um einen sättigbaren Prozess, der sich nach der Michaelis-Menten-Kinetik richtet (Schröder und Diener, 2000). Dieser Transportmechanismus ist an Strukturen gebunden, die das Substrat erkennen, binden und durch die Membran transportieren. Diese Transportproteine bezeichnet man im Allgemeinen als Carrier (Schröder und Diener, 2000). Dieser Transportmechanismus ist sehr spezifisch und folgt auch nur einem Konzentrationsunterschied, verbraucht also keine Energie. Der Transport während der erleichterten Diffusion kann in bestimmten physiologischen Konzentrationsbereichen sogar schneller erfolgen, als bei der passiven Diffusion (Schröder und Diener, 2000).

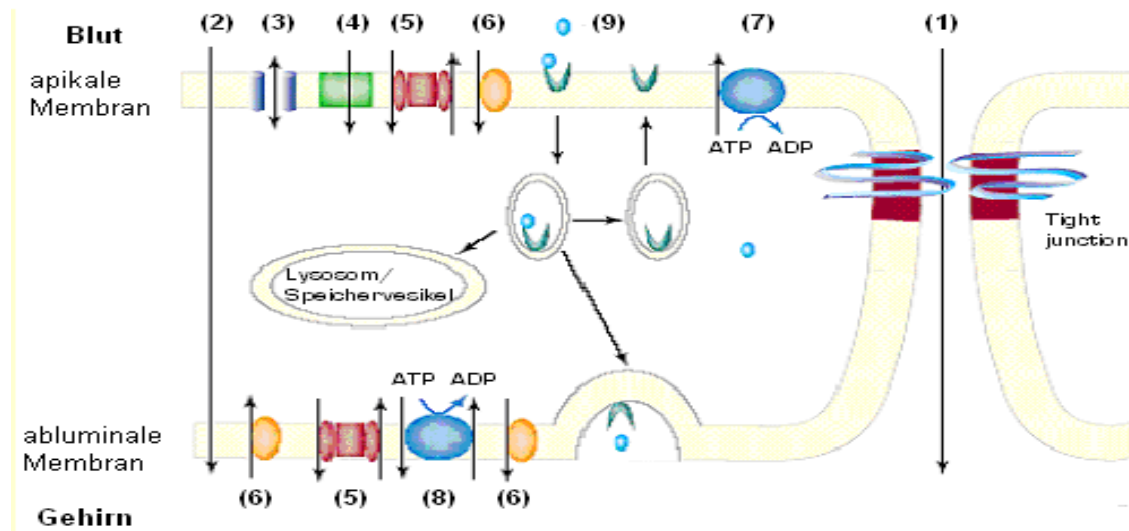


Abb. 46 Übersicht über die verschiedenen Transportmechanismen und Strukturen an der Blut-Hirn-Schranke (aus Huber et al., 2001).

- | | |
|--|------------------------------------|
| (1) parazelluläre Diffusion durch Tight junction reglementiert | (6) erleichterte Diffusion |
| (2) passive transzelluläre Diffusion | (7) aktiver Transport |
| (3) Kationenkanal | (8) aktiver Co-Transport |
| (4) Ionen-Symport | (9) rezeptorvermittelte Endozytose |
| (5) Ionen-Antiport | |

Neben den passiven Transportmechanismen gibt es auch **aktive** (Abb. 46/7). Diese sind energieabhängig und benötigen u. a. die Hilfe der Na^+/K^+ - ATPase, um Substanzen zu transportieren. Allerdings befinden sich diese aktiven Efflux Transporter nur auf der, dem Gehirn zugewandten Seite; also der sogenannten basolateralen Seite der Gehirnkapillarendothelzellen. Als Beispiel eines solchen Transporters sind hier das P-Glycoprotein und auch die „multidrug resistance proteins“ (Bauer, 2002, Padridge, 2003) zu nennen. Durch diese Pumpe wird Kalium aus

dem Interstitium des Gehirns entfernt und Na^+ aus dem Blut in das Interstitium transportiert. Das bewirkt, dass durch die niedrige Kaliumdichte im Gehirngewebe die Potentiale der Nervenzellen stabilisiert werden. Die Aminosäure Glycin wird ebenfalls über diesen Transportmechanismus überführt. Durch den Natriumeinstrom gelangt auch Wasser osmotisch in das Interstitium. Der Teil des Liquors, der an den Kapillaren gebildet wird, kommt so zustande. Eisen und Insulin gelangen über den **rezeptorvermittelten Transport** (Abb. 46/9) in das Gehirn. Auch das HIV-Virus verwendet diesen Transportweg, um in das Gehirn zu gelangen (Banks et al., 2005).

2. Transportproteine für organische, hydrophile Kationen:

Die erste Klonierung eines Transportproteins dieser Gruppe gelang 1994 und wurde als (OCT1) klassifiziert (Gründemann et al., 1994). Die Gruppe der „organic cation transporter“ (OCT) gehört zu den Transmembranproteinen und wird, aufgrund der genetischen Ähnlichkeiten mit den organischen Anionentransportern, der SLC 22 Carrierfamilie zugerechnet (Koepsell et al., 2003; Müller, 2005). OCT besitzt zum Beispiel ebenfalls 12 Transmembrandomänen (Abb. 47). Transportiert werden Monoaminotransmitter, klassische organische kationische Substrate, wie Tetraethylammonium und Cholin, unter anderem auch die Medikamente Chinin und Tubocurarin (Drewe und Krähenbühl, 2000; Tamai und Tsuji, 2000). Die Carrier benutzen das Membranpotential als Antriebskraft (Drewe und Krähenbühl, 2000). Die später charakterisierten OCT 2 (Gorboulev et al., 1997) und OCT 3 (Gründemann et al., 1998) weisen eine enge Verwandtschaft mit OCT 1 auf. OCT 2 ist vor allem in Niere, aber auch Gehirn und Caco-2-Zellen (Fogh et al. 1977) zu finden (Gorboulev et al., 1997, Bleasby et al., 2000; Motohashi et al., 2002). Wobei es tierartliche Unterschiede, sowohl bei der Verteilung, als auch bei der Substratspezifität gibt (Tamai und Tsuji, 2000, Müller, 2005). Die danach entdeckten OCTN 1 (Tamai et al., 1997; Yabuuchi et al., 1999) und OCTN 2 (Wu et al, 1998b; Tamai et al. 1998) besitzen als Besonderheit eine Nukleotidbindungsstelle (Tamai et al., 1998). OCTN1 wird hauptsächlich in Niere, Trachea, Knochenmark und in der fetalen Leber gefunden (Tanai et al., 1997), OCTN 2 in Niere, Skelett- und Herzmuskulatur, Plazenta, Prostata und auch Gehirn (Tamai et al., 1998, Wu et al., 1998b, Elimrani et al., 2003). OCTN 2 ist Na^+ abhängig und spielt eine wichtige Rolle als Carnitin-Transporter. Es konnte gezeigt werden, dass bestimmte Mutationen des Carriers Carnitinmangel zur Folge haben.

Weitere wichtige und bis jetzt charakterisierte Transporter sind (Drewe und Krähenbühl, 2000):

OCTN 3, das nur an der Plazenta zu finden ist,

„cation transporter 1“ CT 1, das in den Hoden, Kolon, Leber und auch in anderen Geweben verbreitet ist,

„novel kidney transporter“ (NKT), der nur an der Niere vorkommt.

Es wird vermutet, dass die im Gehirn befindlichen Carrier der OCT Familie in der Regulierung der Neurotransmitter eher für die Neuronen, als für die BHS von Bedeutung sind (Busch et al., 1998; Wu et al., 1998 a).

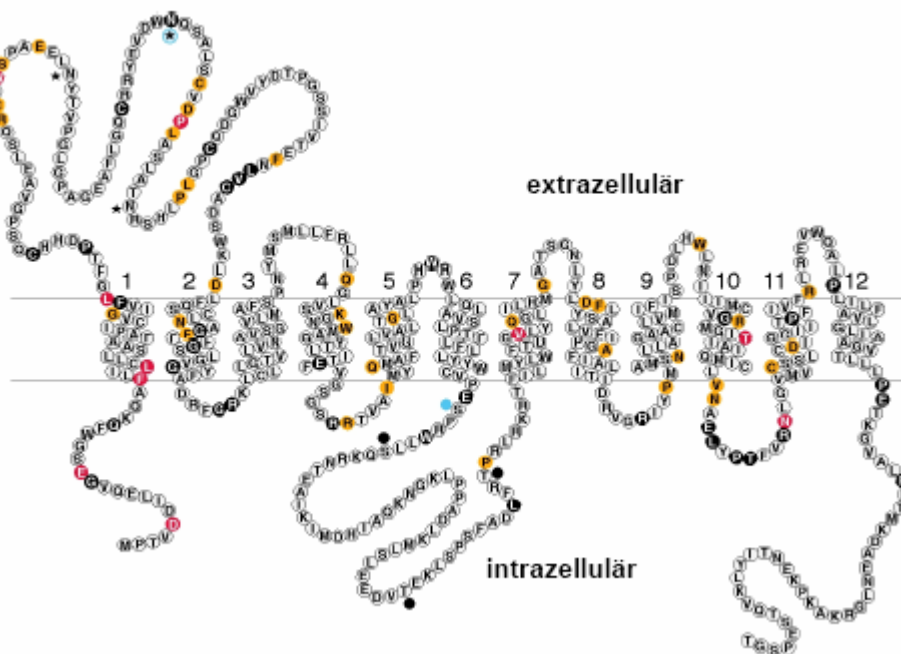


Abb. 47 Struktur des humanen OCT 1. Gut erkennbar sind die 12 Transmembrandomänen mit einer großen extrazellulären und einer kleineren intrazellulären Schleife (nach Koepsell et al., 2003).

D. Spezieller Teil der Transportsysteme an der Blut-Hirn-Schranke

1. Glucosetransporter bzw. Hexosentransporter

Die meisten Zellen im Körper sind, besonders die des Gehirnes, auf die kontinuierliche Versorgung mit Glukose angewiesen. Aufgrund der Hydrophilität dieses Moleküles kann die Doppellipidmembran einer Zelle nur mit Hilfe bestimmter Glukosetransporter überwunden werden (Joost und Thorens, 2001). Dafür sorgen im Körper zwei Transportertypen. Zum einen sind dies die Na^+ abhängigen Glucosetransporter „sodium dependent glucose transporters“ (SGLT) und zum anderen die Transporter, die auf der Basis der erleichterten Diffusion arbeiten, sogenannte „facilitative glucose (sugar) transporter“ (GLUT) (Wood und Trayhurn, 2003). Da die SGLT nur im Darm und in der Niere vorkommen, ist nur der Zweite Typ für das Gehirn relevant. Deshalb soll hier nur auf diesen Mechanismus eingegangen werden. Crone (1965) entdeckte als Erster einen Transportmechanismus, der die Versorgung des Gehirns mit Glukose mittels erleichterter Diffusion übernimmt. Zahlreiche Untersuchungen beschäftigen sich seitdem mit der Erforschung des Transports der verschiedenen Hexosen im Gehirn (Dick et al., 1984, Gjedde, 1992; Joost et al., 2002). Da es zu Entdeckungen der gleichen Transporter bei unterschiedlichen Forschungsgruppen kam, die diese unterschiedlich benannten, kommt es teilweise bei deren Einteilung zur Verwirrung (Joost et al., 2002). Joost et al. (2001) stellten die Systematik um. Anhand dieser Umstellung wurde eine neue Systematik strukturiert (Joost und Thorens, 2001 Joost et al., 2002) (Tab. 2). Diese Systematik scheint allgemein anerkannt und liegt den hier gemachten Beschreibungen zugrunde. Zur Familie der Glucosetransporter (Glut) zählt man mittlerweile 13 Transporter, die in in drei Subklassen eingeteilt werden (Joost und Thorens, 2001, Joost et al., 2002). Hier gibt es zwei unterschiedliche Nomenklaturen. In der neueren Nomenklatur, in der der Genort (gene symbol system) bestimmend ist, werden die Transporter zu den „solute carriers 2A“ (SLC2A) gezählt. Die Proteinstruktur (protein symbol system) ist für das alte GLUT System ausschlaggebend (Joost und Thorens, 2001; Joost et al., 2002).

Die GLUT sind ähnlich strukturiert. Sie besitzen jeweils 12 Transmembran-Helices (Zuniga et al., 2001). Der Teil der Transporter, die Fructose als Substrat benutzen können, GLUT 2, 5 und 7 haben, im Gegensatz zu den anderen Transportern, an der Position „314“ ein Isoleuzin, statt eines Valins. Dafür können Glut 1, 2, 4 auch Ga-

laktose befördern, was den anderen Transportern nicht möglich ist (Manolescu et al., 2005).

Protein	alias	Gene name	Chromos. localization	cDNA	Gene (ensemble)	Expression
GLUT1 ¹		SLC2A1	1p35–31.3 (47.7 MB)	K03195	AC023331	erythrocytes, brain (vascular)
GLUT2 ²		SLC2A2	3q26.2–27 (186.9 MB)	J03810	AC068853	liver, islets
GLUT3 ³		SLC2A3	12p13.3(8.1 MB)	J04069	AC007536	brain (neuronal)
GLUT4 ⁴		SLC2A4	17p13 (8.4)	M20747	AC0003688	muscle, fat, heart
GLUT5 ⁵		SLC2A5	1p36.2 (8.3 MB)	J05461	AC041046	intestine, testis, kidney
GLUT6 ^{6,7}	GLUT9 ⁸	SLC2A6	9q34 (136.5 MB)	Y17803	AC002355	spleen, leukocytes, brain
GLUT7		SLC2A7	1p36.2 (8.2 MB)		AL356306	unknown
GLUT8 ^{9,9}	GLUTX1 ¹⁰	SLC2A8	9 (129.9 MB)	Y17801	AL445222	testis, blastocyst, brain
GLUT9 ¹¹	GLUTX ¹²	SLC2A9	4p15.3–16 (10.2 MB)	AF210317	AC005674	liver, kidney
GLUT10 ¹³		SLC2A10	20q12–13.1 (47.3 MB)	AF321240	AC031055	liver, pancreas
GLUT11 ¹⁴	GLUT10 ¹⁵	SLC2A11	22q11.2 (20.8 MB)	AJ271290	AP000350	heart, muscle
GLUT12	GLUT8 ¹⁶	SLC2A12	6q23.2 (145.5 MB)		AL449363, AL35699	heart, prostate
HMIT ¹⁷		SLC2A13	ambiguous	AJ315644		brain
pseudogene	GLUT6 ⁵	SLC2A3P1	5q33–35 (183.7 MB)	J05462	AC020894	retroposon of SLC2A3, 80% identical nt
pseudogene		SLC2A3P2	1p31.3 (73.6 MB)		AC025866	retroposon of SLC2A3, 90% identical nt
pseudogene		SLC2A3P3	12p13.3 (8 MB)		AC006517	retroposon of SLC2A3, 95% identical nt
pseudogene		SLC2AXP1	2q11.2 (96.6 MB)		AC026626	internal stops, 39% identical aa w. GLUT3

¹Mueckler et al. (1985); ²Fukumoto et al. (1988); ³Kayano et al. (1988); ⁴Fukumoto et al. (1989); ⁵Kayano et al. (1990); ⁶Doerge et al. (2000a); ⁷Joost et al. (2001b); ⁸Doerge et al. (2000b); ⁹Carayannopoulos et al. (2000); ¹⁰Ibberson et al. (2000); ¹¹Phay et al. (2000); ¹²Tartaglia and Weng (1999); ¹³McVie-Wylie et al. (2001); ¹⁴Doerge et al. (2001a); ¹⁵Doerge et al. (2001b); ¹⁶Rogers et al. (1998); ¹⁷Uldry et al. (2001).

Tab. 2 zeigt eine Übersicht der bekannten Glucosetransporter und den jeweiligen Spezifitäten (aus Joost und Thorens, 2001).

Die Einteilung der Subtypen (Abb. 47) erfolgt nach unterschiedlichen Gesichtspunkten:

In der Ersten Klasse sind die gut charakterisierten Transporter GLUT 1-4 enthalten, deren Gewebeverteilung recht individuell ist. GLUT 1 ist hauptsächlich auf Erythrozyten und an den kleinen Gefäßen des Gehirnes nachweisbar (Mueckler et al., 1985). GLUT 2 findet man hauptsächlich in Leber und Pankreas (Fukumoto et al., 1988), GLUT 3 an neuronalen Zellen (Kayano et al., 1988), GLUT 4 in Fett- und Muskelgewebe (Fukumoto et al., 1989). Sie haben eine vergleichbare Affinität zu Glucose und weisen ähnliche molekulare Strukturen und Hormonsteuerung auf (Joost und Thorens, 2001).

In Klasse Zwei sind die Transporter zusammengefasst, die auch Fructose als Substrat haben GLUT 5, 7, 9 und 11. Wobei GLUT 5 Fructose spezifisch ist. Diese

Transporter zeigen einige spezifische Charakteristika auf molekularer Ebene (Joost und Thorens, 2001).

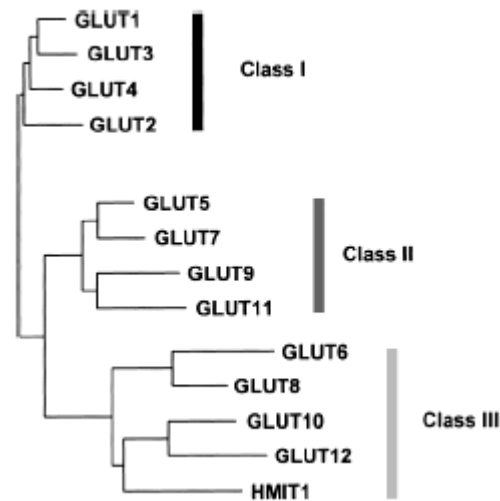


Abb. 48 Übersicht über die verschiedenen Carrier und deren Einteilung in die verschiedenen Subtypen (aus Joost et al., 2002).

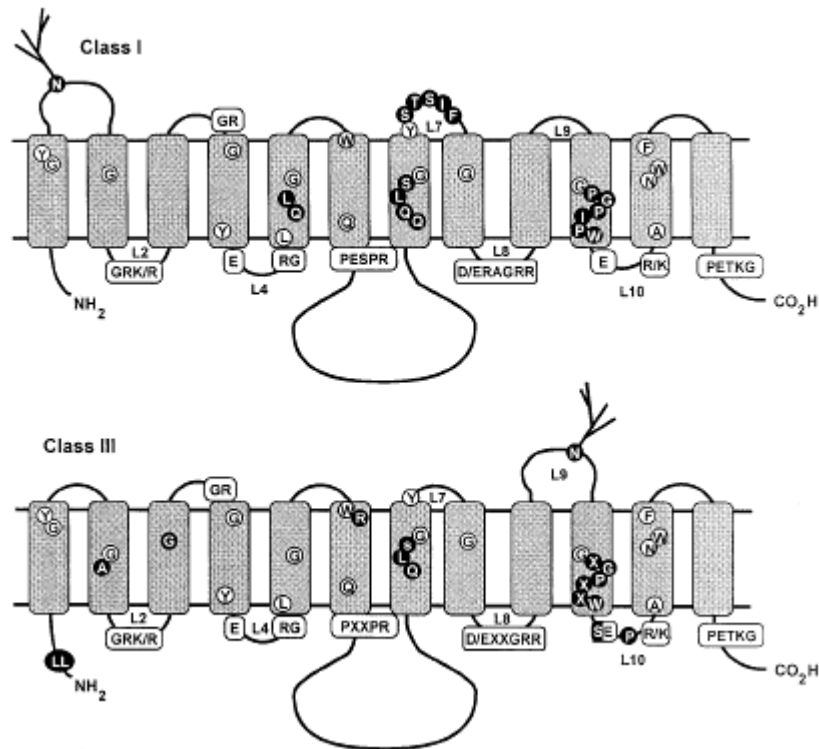


Abb. 49 Vergleich der molekularen Struktur der Klasse I und III der Glucosetransporter. Gut erkennbar sind die Unterschiede an Schleife 1 und 9 (aus Joost und Thorens, 2001).

In Klasse Drei der Glucosetransporter sind GLUT 6, 8, 10, 12 und H (+)-Myo-Inositol Cotransporter (HMIT) zusammengefasst. Diese Carrier besitzen eine kürzere erste extrazelluläre Schleife, an der eine Glykosilierungsstelle fehlt. Sie haben diese stattdessen an der, im Vergleich mit den anderen Klassen, größer angelegten neunten Schleife siehe (Abb. 49) (Joost und Thorens, 2001).

Mückler et al. (1985) waren die ersten, die einen Glucosetransporter der Leber und der Erythrozyten nach Aminosäuren sequenzierten. Diesen, später als **GLUT 1** bezeichneten 55 kD großen Carrier (Fenstermacher et al., 2001), findet man in vielen Geweben, so zum Beispiel im Skelettmuskel (Castello et al., 1993) und in sehr großer Anzahl auf den Zellmembranen der menschlichen Erythrozyten. Der Carrier spielt eine wichtige Rolle an der Blut-Hirn-Schranke (Cornford et al., 1995; Doege et al., 2000a, b; Pardridge, 1991) und auch an den anderen Blut-Gewebe-Schranken, wie zum Beispiel der Blut-Plazenta-Schranke (Märten, 2004). Er ist wohl einer der Transporter, die für die basale Versorgung der meisten Zellen mit Glucose sorgen (Doege et al., 2000a, b). Schon Mückler et al. erkannten, dass der Transporter aus 12, die Zellmembran durchspannende, Domänen besteht (Mueckler et al., 1985) (Abb. 48). Der Transporter ist in den Endothelzellen sowohl luminal, als auch abluminal vorhanden (Farrell und Pardridge, 1991; Simpson, et al., 2001) (Abb. 50). Farrell und Padridge (1991) zeigten mittels Versuchen an der Ratte, dass die Verteilung von GLUT 1 im Endothel sich nicht symmetrisch verhält, sondern luminal etwa die 4-fache Anzahl der Transporter zu finden ist. Intrazellulär und abluminal befindet sich in etwa die gleiche Anzahl Carrier. Ähnliche Verteilungsmuster an den Gehirnkapillarendothelzellen sind auch bei Mensch (Cornford et al., 1995) und Kaninchen (Cornford et al., 1993) nachgewiesen. Die Anzahl der Glut 1 Transporter an den Zelloberflächen steigt mit erhöhten Insulinkonzentrationen an (Hausdorff et al., 1995; Hansen et al., 1998).

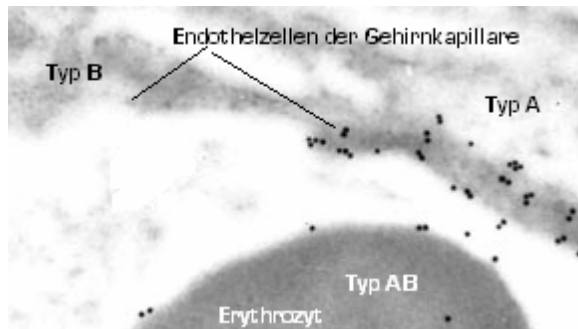


Abb. 50 Elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt die Verteilung von Glut 1 an den unterschiedlichen Kompartimenten des cerebralen humanen Kapillarendothels, beachte auch den Größenmaßstab im Vergleich mit dem angeschnittenen Erythrozyten (aus Cornford und Hyman, 2005).

Das Transportsystem sorgt sowohl für den spezifischen Transport von D-Glucose (Goldstein und Betz, 1986), als auch anderer D-Hexosen (Fenstermacher et al., 2001) ins Gehirn. L-Glucose wird dagegen von Glut 1 nicht als Substrat akzeptiert (Fenstermacher et al., 2001). GLUT 1 sorgt ebenfalls für die Vitamin C Versorgung des Gehirns, wobei die oxidierte Form Dehydroascorbinsäure transportiert und dann im Gehirn wieder in Ascorbinsäure umgewandelt wird (Agus et al., 1997). Neuere Publikationen gehen davon aus, dass es unterschiedliche Variationen von GLUT 1 gibt und dass bei dem GLUT 1 Transporter an der BHS die Möglichkeit eines Co-Transportes von Wasser und Glucose besteht (Cornford und Hyman, 2005). Des weiteren teilen Cornford und Hyman (2005), aufgrund ihrer beim Menschen gemachten Untersuchungen, je nach Menge der vorhandenen GLUT 1 Epitope, die Kapillarendothelzellen in Typ A, mit viel GLUT 1 (20-30 Epitope/ μm), Typ B Kapillaren, mit wenig GLUT 1 (1-2 Epitope/ μm) und dem Zwischentyp AB (5-10 Epitope/ μm) (Abb. 50) ein.

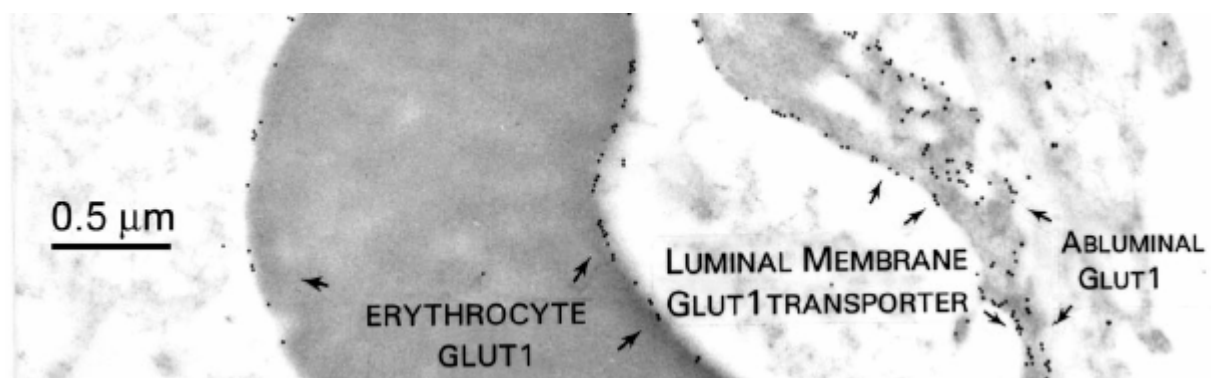


Abb. 51 Immunogold Aufnahme einer Gehirnkapillare. GLUT 1 ist markiert. Man erkennt die Verteilungsmuster an den Zelltypen A und B. Der Erythrozyt wird den AB Typus zugerechnet (aus Cornford und Hyman, 2005).

Um ein noch besseres Verständnis der Funktionsmechanismen zu erlangen, wird mit unterschiedlichen Methoden versucht ein dreidimensionales Bild der Struktur von verschiedenen Proteinen unter anderen auch der Transportproteine zu erstellen (Chang et al., 2005). In Bezug auf die Erstellung eines dreidimensionalen Modells (Abb. 52) von Glut 1 ist schon sehr viel Forschungsarbeit geleistet worden (Alisio und Mueckler, 2004; Manning et al., 2002, Mueckler und Makepeace, 1999; Mueckler und Makepeace, 2002; Mueckler et al., 2004; Mueckler und Makepeace, 2005; Salas-Burgos et al., 2004; Sato und Mueckler, 1999; Zuniga et al., 2001). Es ist der am genauesten erforschte Hexosetransporter (Chang et al., 2005).

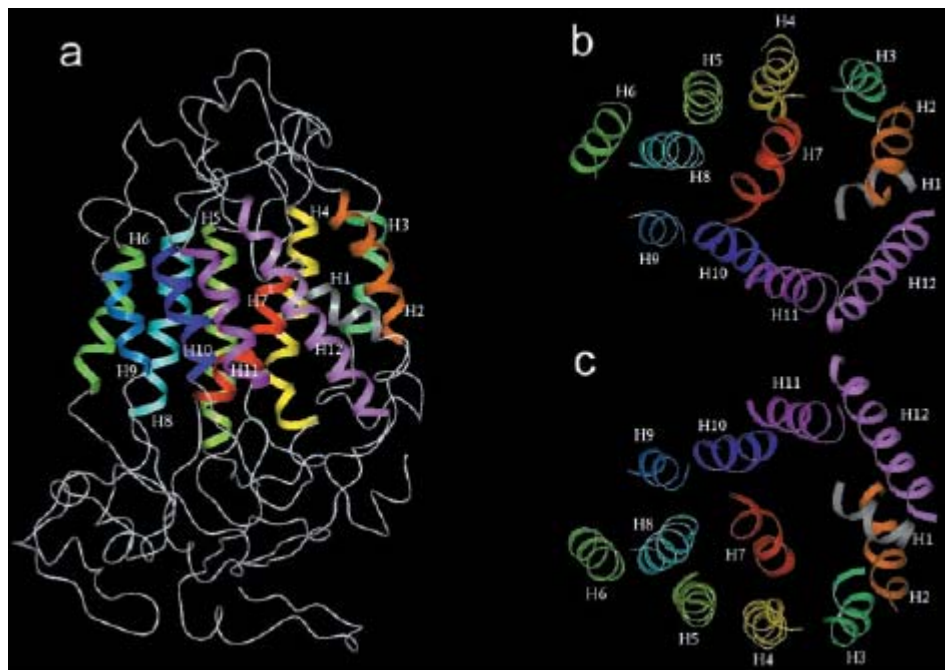


Abb. 52 Bandmodelle von GLUT 1:

a) zeigt eine seitlich Gesamtansicht

b) extrazelluläre Ansicht

c) Ansicht der Cytoplasmatischen Oberfläche (aus Zuniga et al., 2001).

Fukumoto et al. (1988) suchten nach einem Transporter, der für den Glucosetransport in die Leber zuständig ist. Sie fanden ein 524 Aminosäuren großes Protein, das in der strukturellen Organisation dem zuerst gefundenen Transporter, der spätere GLUT 1, ähnlich war. Dieses, dem „Glucosetransporter ähnliche Protein“, unter-

schied sich jedoch in der Sequenz von GLUT 1 um 44,5%. Der Transporter, später **GLUT 2** genannt, war in großen Mengen in der Leber zu finden und in kleineren Mengen in der Niere und im Dünndarm (Fukamoto et al., 1988). Ebenso ist er in den Beta-Zellen des Pankreas präsent (Joost und Thorens, 2001). Er kann sowohl Glucose als auch Fructose transportieren (Manolescu et al., 2005). GLUT 2 besitzt eine auffallend hohe Michaelis-Menten-Konstante (K_M) für Glucose von 15-20 mmol, sie liegt hier um einiges höher, als beispielsweise die Konstante für Glut 1, die bei 4-8 mmol liegt (Stryer et al., 2002). Der hohe Umsatz von Glucose ist zum einen wichtig für die schnelle Reaktion auf Veränderungen des Blutzuckerspiegels an der Leber, zum anderen sorgt GLUT 2 in den Epithelzellen des Darms und der Nieren für eine schnelle Bewältigung der transepithelialen Substratflüsse nach den Mahlzeiten (Petrides, 1998). GLUT 2 bildet es zusammen mit der Glucokinase ein System, welches schon auf minimale Änderungen des Blutglucosespiegels mit entsprechenden Reaktionen des Glucosestoffwechsels reagiert (Petrides, 1998).

Kayano et al. (1988) konnten ein drittes Protein identifizieren und charakterisieren, das starke Homologien (64,4% zu GLUT 1; 51,6% zu GLUT 2) zu den ersten beiden aufwies. Sie vermuteten, dass es sich bei diesen Transportern wohl um eine Familie mit ähnlicher Struktur handeln müsse, die in die Nährstoffversorgung der Zellen involviert sind. **GLUT 3** ist wie Glut 1 in fast allen Körperzellen, vor allem aber im Gehirn, in der Niere, den Nervenzellen und in der Plazenta zu finden (Kayano et al., 1988; Xia et al., 1993). Diese insulinabhängigen (Xia et al., 1993; Horn et al., 2003) Transporter sind beide für die basale Versorgung mit Glukose verantwortlich (Horn et al., 2003). Zudem ist GLUT 3 sehr wichtig für die neuronale Glucoseversorgung und zeichnet sich durch eine sehr geringe K_M aus, wobei Stryer et al. (2002) sie mit 1mmol/l und Petrides (1998) mit 10 mmol/l angibt.

Glut 4 ist insulinabhängig und in der Skelett- und Herzmuskulatur, in Adipozyten und im braunen und weißen Fettgewebe zu finden (Castello et al., 1993; Xia et al., 1993). Bei erhöhtem Insulinspiegel wandern die Glut 4 Transporter von den inneren Kompartimenten der Zelle vermehrt an die Zelloberfläche (Hausdorff et al., 1995; Haruta et al., 1995; Hansen et al., 1998) und trägt so zu der schnellen Glucoseaufnahme nach den Mahlzeiten bei. Die Glut 4 Isoform ist sowohl auf den Plasmamembranen als auch in einem spezifischen Kompartiment des Golgi-Apparates zu finden, wobei die Transporter durch vesikuläre Endo- bzw. Exozytose vom einem zum anderen

Kompartiment ausgetauscht werden können (Petrides, 1998). So ist eine rasche insulinabhängige Erhöhung der Glut 4 Dichte in der Plasmamembran möglich (Petrides, 1998). Die Dichte dieser Carrier wird im Skelettmuskel auch durch körperliches Training beeinflusst (Castello et al., 1993).

GLUT 5 (Kayano et al., 1990) ist primär ein Fructose-Transporter (Joost und Thorens, 2001; Manolescu et al., 2005). Dieser befindet sich an Dünndarm, Niere, Muskel- und Fettgewebe (Kayano et al., 1990) und auch an den Plasmazellen reifer Spermatozyten (Petrides, 1998).

Das „alte“ **GLUT 6** war ein Pseudogen, das mit GLUT 3 im Zusammenhang stand und dessen cDNA Sequenz von Kayano et al. (1990) entdeckt wurde. Das „neue“ GLUT 6 (Doege et al., 2000a), ehemals als GLUT 9 bezeichnet (Joost und Thorens, 2001), ist vor allem im Gehirn, Leukozyten und Milz zu finden (Doege et al., 2000a). Es zeigt die charakteristischen 12 intrazellulären Helices und besitzt mit GLUT 8 eine Homologie in der Aminosäuresequenz von 44,8% (Doege et al., 2000a). Der Nachweis des Proteins dieses Transporters in einem dieser Kompartimente konnte jedoch noch nicht erbracht werden (Joost und Thorens, 2001).

GLUT 7 ist ein nicht charakterisiertes Gen (SLC2A7), dem Genort von GLUT 5 benachbart. Beide Transporter weisen große Ähnlichkeiten auf und haben zu 58% die gleichen Aminosäuresequenz (Joost und Thorens, 2001). Glut 7 spielt während der Gluconeogenese in der Leber eine wichtige Rolle und kann sowohl Glukose, als auch Fructose transportieren (Petrides 1998, Joost et al., 2002, Manolescu et al., 2005).

GLUT 8 ist der vormals auch als GLUTX1 bezeichnete Transporter (Joost und Thorens, 2001). Die cDNA von GLUT 8 wurde beim Mensch und Maus sequenziert (Doege et al., 2000b; Ibberson et al., 2000, Crayanopulus et al, 2000). Die mRNA dieses Transporters ist vor allem in den Hoden und in kleineren Mengen im Skelettmuskel, Herz, Dünndarm und Gehirn zu finden (Doege et al., 2000b). Da der GLUT 8 in Hoden von adulten Ratten zu finden war, nicht aber in den Testis von nicht geschlechtsreifen Ratten gefunden wurde, wird vermutet, dass es sich bei diesem Carrier um einen hormongesteuerten Glucosetransporter handelt, der im Hoden eine spezifische Rolle spielt (Doege et al., 2000b). Es gibt auch Vermutungen, dass die

Ausbildung von GLUT 8 mit dem Metabolismus von Adipozyten im Zusammenhang steht (Scheepers et al., 2001).

Phay et al., publizierten im Jahre 2000 die Sequenz der cDNA von **GLUT 9**. Der Carrier ist der von Targatalia und Weng (1999) als GLUTX patentierte Transporter, wobei die Sequenzen etwas abweichen. Es wird vermutet, dass Phay et al. (2000) die richtige Sequenz vorgestellt haben (Joost und Thorens, 2001; Joost et al., 2002). Das Vorkommen dieses 540 Aminosäuren umfassenden Transporters ist sehr stark auf Leber und Niere konzentriert, kleinere Mengen seiner mRNA wurden in Dünndarm, Plazenta, Lunge und Leukozyten gefunden (Phay et al., 2000).

2001 wurde von McVie-Wylie et al. **GLUT 10** vorgestellt. GLUT 10 besteht aus 541 Aminosäuren und zeigt in seiner Struktur die für die GLUT Transporter charakteristischen 12 intrazellulären Helices (McVie-Wylie et al., 2001). Die größte Verbreitung findet GLUT 10 in Leber und Pankreas (McVie-Wylie et al., 2001).

Bisher ging man davon aus, dass **GLUT 11** (Doege et al., 2001a, b) nur in Herz- und Skelettmuskulatur zu finden sei. Inzwischen weiß man, dass es zwei vom „splicing“ abhängige Formen gibt. Zum einen eine kurze Variante, die hauptsächlich in Herz und Skelettmuskulatur zu finden ist (Wu et al., 2002), zum anderen eine lange GLUT 11 Variation, die in Leber, Lunge und Gehirn vorkommt (Wu et al., 2002). Der Glucosetransport bei Glut 11 wird durch die Anwesenheit von Fructose gehemmt (Doege et al., 2001b).

Rogers et al. (1998, 2002) identifizierten ein neues glucotransporterähnliches Protein, welches sie in Brustkrebszellen fanden, **GLUT 12**. Der Transporter ist im Skelettmuskel, Fettgewebe und Dünndarm vorkommend und gehört zu den insulinabhängigen Glucosecarriern (Rogers et al., 2002).

HMIT (H(+)-Myo-Inositol-Transporter) besteht aus 618 Aminosäuren (Uldry et al., 2001). Das Glycoprotein ist zwischen 75 und 90 kDa groß. Der Carrier besitzt 12 intrazelluläre Domänen und ist vorwiegend im Gehirn zu finden. Hier ist sein Vorkommen v. a. an den Astrozyten und etwas weniger häufig an den Neuronen sowohl an der Zelloberfläche als auch im Zellinneren nachgewiesen worden (Joost und Thorens, 2001). Dieser Transporter ist der erstentdeckte protonengekoppelte H(+)-Myo-Inositol-Transporter und hat somit nicht Glucose als Substrat (Uldry et al., 2001). Untersuchungen an Oozyten von *Xenopus laevis* zeigten, dass HMIT nur

Myo-Inositol und dessen verwandte Stereoisomere transportiert, wobei eine Transportsteigerung bei niedrigen pH Werten mit einem Maximum bei pH 5 (Uldry et al., 2001) festzustellen war. Der Transporter ist in intrazellulären Vesikeln zu finden, die nicht mit den synaptischen Vesikeln vergleichbar sind (Uldry et al., 2004). An der Zelloberfläche ist HMIT nach intrazellulärem Kalziumanstieg oder Zelldepolarisation zu finden und auch in Gebieten in denen nervales Wachstum stattfindet, kommt er vermehrt vor (Uldry et al., 2004).

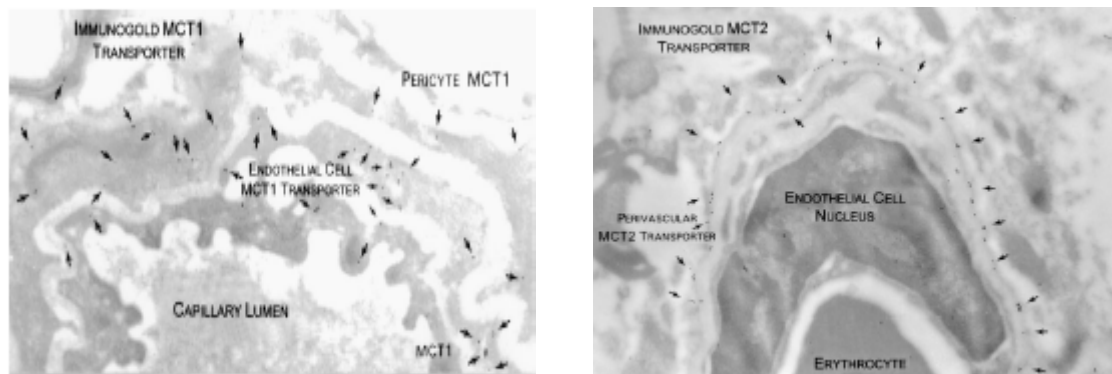


Abb. 53 Die Aufnahmen verdeutlichen die Aktivität verschiedener MCTs an der Blut-Hirn-Schranke (aus Cornford und Hyman 1999). Linke Abb.: MCT 1 ist hauptsächlich im Kapillarendothel zu finden. Rechte Abb.: Nachweis von MCT 2 an den glialen Ausläufern dicht hinter den Basal laminae.

2. Monocarboxylat Transporter

MCT (monocarboxylic acid transporter) ist ein protonengekoppelter Carrier, der für die essentielle Versorgung des Gehirns mit Monocarboxy-Carbonsäuren sorgt (Märten, 2004). Diese 9 Mitglieder (MCT1 - MCT9) umfassende Familie von Integral Proteinen spielt eine immens wichtige Rolle für die Energieversorgung des Gehirns, wenn aus die Versorgung mit D-Glucose nicht mehr ausreicht (Drewes et al., 2001). Dies ist zum Beispiel während ausgedehnter Fastenzeiten, aber auch während der Säuglingszeit und Neonaten der Fall (Drewes et al., 2001), weshalb diese Carrier zu dieser Zeit vermehrt ausgebildet sind. So ist zum Beispiel nachgewiesen, dass in einem 17 Tage alten gesäugten Rattenbaby die Dichte von MCT1, um das 25fache höher ist, als bei einem erwachsenen Tier (Leino et al., 1999) (Abb. 53, 54). Unter

diesen Umständen erfolgt die Energieversorgung dann vorrangig mit Hilfe von Laktat, Pyruvat und den Ketonkörpern Beta-Hydroxybutyrat und Acetactat (Drewes et al., 2001), die als Alternativen zu D-Glukose zur Verfügung stehen. Die unterschiedliche Verteilung an den Kompartimenten der BHS legen nahe, dass die Transporter unterschiedliche Aufgaben haben (Cornford und Hyman, 1999). So dient wahrscheinlich der hauptsächlich im Endothel zu findende MCT 1 der Ernährung des Gehirns, beispielsweise mit Ketonkörpern, wohingegen der in den angrenzenden glialen Zellen zu findende MCT 2 eher für den Abtransport von beispielsweise Laktat aus dem Hirn parenchym sorgt (Cornford und Hyman, 1999) (Abb. 53, 54).

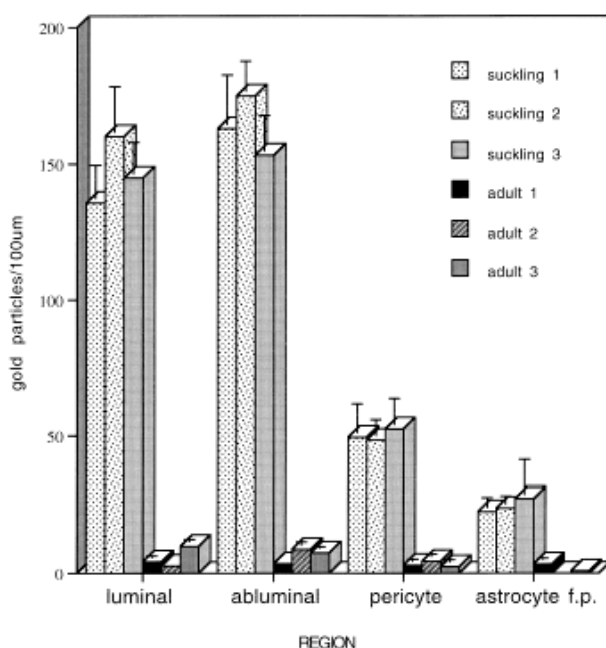


Abb. 54 Gegenüberstellung der vorhandenen MCT1 Transporter an unterschiedlichen Kompartimenten bei Adulten und noch säugenden Ratten mit Hilfe der Immunogold-Elektronenmikroskopie (aus Leino et al., 1999).

E. Aminosäuren Transport an der Blut-Hirn-Schranke

Lange Zeit wurde angenommen, dass für den Transport der Aminosäuren in das Gehirn nur die drei von Oldendorf und Szabo (1976) gefundenen Transportsysteme existieren und je ein Carrier für neutrale, basische und saure Aminosäuren zuständig sei. Inzwischen hat man entdeckt, dass die Verhältnisse wesentlich komplizierter und komplexer sind (O’Kane und Hawkins, 2003).

1. Der Transport von neutralen Aminosäuren:

Für den Transport von neutralen Aminosäuren stehen einige Systeme im adulten Körper zur Verfügung.

Dies sind:

das Na^+ unabhängige L-System und

die Na^+ abhängigen Systeme:

- ASC-Transporter,
- das A-System,
- der $\text{B}^0, +$ Carrier (Smith, 2000; Tamai und Tsuij, 2000),
- das N-System und
- das EAAC System (O’Kane und Hawkins, 2003).

Oexender und Christensen (1963) fanden bei ihren Versuchen mit Ehrlichzellen ein Na^+ unabhängiges Aminosäuretransportsystem. Dieses wurde später als **L System** bezeichnet. Nach der Erkenntnis, dass es mehr als nur ein Na^+ unabhängiges Transportsystem gibt (Segawa et al., 1999; Pineda et al., 1999; Kanai et al., 1998), wurde eine neue Nomenklatur erstellt und das L System aufgeteilt. Zwei Variationen sind bisher gefunden worden; sie werden als „large neutral amino acid transporter“ LAT 1 und 2 bezeichnet (Hyde et al., 2003; Jain-Vakkalagadda et al., 2003). Ein für die Blut-Hirn-Schranke wichtiger Carrier soll nur der als LAT 1 bezeichnete Transporter sein (Boado et al., 1999, Boado et al., 2004). Segawa et al. (1999) publizierten jedoch, dass LAT 2 stark verbreitet in Dünndarm, Niere, Plazenta und auch im Gehirn ist. Die Affinität des Transporters (LAT 1), der neben dem Gehirn auch in der Cornea (Jain-Vakkalagadda et al., 2003) nachgewiesen wurde, zu den Aminosäuren, ist besonders groß, d.h. er zeichnet sich durch eine kleinere Michaelis-Menten Konstante aus, als die Vertreter des L Systems im peripheren Gewebe (Boado et al., 1999). Da die Unterschiede von LAT 1 und LAT 2 im Rahmen dieser Dissertation von geringer Relevanz sind, wird in den weiteren Ausführungen der ursprüngliche Name: L-System verwendet.

Das L-System ist im Gegensatz zu den anderen Na^+ abhängigen Transportern für neutrale Aminosäuren sowohl luminal als auch abluminal vorhanden (Oldendorf, 1971a, b; Oldendorf und Szabo, 1976; Padridge, 1977; Sánchez del Pino et al., 1995b, Joo, 1995, Smith und Stoll, 1998, Kanai et al., 1998). Es sorgt für den Über-

tritt großer neutraler Aminosäuren (Oexender und Christensen, 1963; Smith und Stoll, 1998; Kanai et al., 1998) und auch von verzweigtkettigen und aromatischen Aminosäuren aus dem Blut ins Gehirn. Das Transportsystem funktioniert nach dem Mechanismus der erleichterten Diffusion und hat eine hohe Affinität zu Leuzin. Es wird deshalb von anderen neutralen Aminosäuren wie Glutamin, Histidin, Methionin und Phenylalanin in der Transportrate gehemmt (O’Kane und Hawkins, 2003) und auch Vasopressin scheint die Transportrate zu mindern (Reichel et al., 1996). Als Substrate gelten beispielweise auch Isoleucin, Valin, Phenylalanin, Tryptophan und sein nicht zu metabolisierendes Analogon 2-Aminobicyclo-2, 2, 1-Heptane-2-Carboxylsäure (Hargreaves und Padridge, 1988; Lefauconnier, 1992). Auch für den Transport von L-Dopa ist das L-System zuständig (Oldendorf, 1971a), wobei nur ein sehr geringer Prozentsatz der radioaktiv markierten Aminosäure ins Gehirn gelangt (Wurtman et al., 1970). Das liegt aber daran, dass das transportierte Dopa durch die Dopa-Decarboxylase inaktiviert wird (Bradbury, 1993). Diese Tatsache macht die Behandlung von Parkinson Patienten so schwierig. Dieses System wird hauptsächlich als Austauschsystem genutzt. Die Transportaktivität dieses Systems wird durch die Menge der systemisch vorhandenen L-Aminosäuren gesteuert (Trans-Stimulation) (Lefauconnier, 1992).

Es gibt insgesamt fünf Na^+ abhängige Aminosäuretransporter, die alle in der abluminalen Zellmembran lokalisiert (Sánchez del Pino et al., 1995 a, b) sind, obwohl in in vitro Versuchen auch an der abluminalen Membran schon einige gefunden wurden (O’Kane und Hawkins, 2003). Diese Na^+ abhängigen Transporter halten die Konzentration der neutralen Aminosäuren in Extrazellulärflüssigkeit bei etwa 10 % der Konzentration des Plasmaspiegels (Kruse et al., 1985; Martinez et al., 1993).

Das **A-System** ist ein Na^+ abhängiges System, dass sich nur an der abluminalen Seite des Gefäßendothels befindet (Betz und Goldstein, 1986; Sánchez del Pino et al., 1992; Sánchez del Pino et al., 1995a, b). Es sorgt dafür, dass kleine neutrale Aminosäuren, wie z. B. Prolin, Histidin, Glycin, Asparagin, Serin und Alanin (O’Kane et al., 2004) aus dem Hirngewebe ins Blut transportiert (Fenstermacher et al., 2001) werden. Es soll aber auch für Aminosäuren mit kurzen polaren oder linearen Seitenketten zuständig sein (Lefauconnier, 1992). Die Transportmenge des A-System wird sowohl von den eigenen intrazellulären Substraten (Trans-Inhibition), als auch durch einen erniedrigten extrazellulären pH-Wert reglementiert (Lefauconnier, 1992).

Bei dem **(ASC)-System** (Alanin, Serin, Cystein) handelt es sich ebenfalls um ein Na^+ abhängiges Transportsystem, das den Haupttransporter an den Gehirnkapillaren für Alanin, Serin, Cystein darstellt (Tayarani et al., 1987). Auch andere homologe Aminosäuren, mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen (Hargraves und Padridge, 1988; Lefauconnier, 1992), werden befördert. Substrate sind insgesamt gesehen: Ala, Ser, Cys, Gly, Met, Val, Leu, Ile, Cys, und Thr (O’Kane et al., 2004, Tovar et al., 1988). Zusätzlich zu seinen Substrat Präferenzen unterscheidet sich dieses System vom A-System durch seine Intoleranz gegenüber N-methylierten Substraten, seiner höheren Stereospezifität und der Sensitivität gegenüber anderen pH Werten (als pH von 7,4) (Hargraves und Padridge, 1988) (Tab. 3). Die in der Zelle befindlichen Substrate steigern seine Aktivität (Trans-Stimulation) (Lefauconnier, 1992). Es ist das Na^+ abhängige Hauptsystem in den meisten Zellarten (Lefauconnier, 1992).

Das „basic amino acid“ System $\text{B}^{\text{O},+}$, (siehe: kationische Aminosäuren Transportern (KAT)).

System N ist für den Transport von Glutamin, Asparagin, Serin und Histidin verantwortlich (O’Kane et al., 2004). Dieses Transportsystem bewältigt an der BHS den Hauptanteil, etwa 80 % des Glutamintransportes. Die verbleibenden 20% trägt System A, wobei es sich hier Ergebnisse von Untersuchungen am Rind handelt, welches kein ASC-System besitzt (Lee et al., 1999) (Abb. 55). System N hat die größte Spezifität für Aminosäuren, mit einer Nitrogen-Gruppe in der Seitenkette, wie z. B. Glutamine Asparagin und Histidin (Sánchez del Pino et al., 1992). System N wird, im Gegensatz zu System A nicht durch Insulin oder Glukagon stimuliert (Kilberg et al., 1980).

Na-LNAA ist ein erst vor kurzem entdeckter Na^+ abhängiger Transporter, der die Aminosäuren Leu., Ile., Val., Trp., Tyr., Phe., Met., Ala., His., Thr., und Gly. als Substrate hat (O’Kane und Hawkins, 2003; O’Kane et al., 2004).

Das Transportsystem, das die Aminosäuren Aspartat und Glutamat bevorzugt, ist das (excitatory amino acid carrier) **EAAC System**. Dieses Na^+ abhängige Transportsystem besteht aus unterschiedlichen Variationen, die dafür sorgen, dass die Konzentration von Glutamat in der extrazellulären Flüssigkeit des Gehirns niedrig bleibt (O’Kane et al., 1999). Der Carrier findet sich sowohl an Astrozyten (EAAT1, EAAT 2), als auch an Neuronen (EAAT 3) (O’Kane et al., 1999). In den Gehirnkapillaren

sind alle drei Transporter an der abluminalen Zytoplasmamembran zu finden und zwar nur dort (O’Kane et al., 1999).

	A	N	ASC	LNAA
Nonessential				
Glycine			+	+
Alanine	+		+	+
Serine	+	+	+	
Proline	+			
Asparagine	+	+		
Glutamine	+	+		
Histidine	+	+		+
Essential in brain				
Threonine			+	+
Cysteine			+	
Methionine			+	+
Valine			+	+
Leucine			+	+
Isoleucine			+	+
Phenylalanine				+
Tyrosine				+
Tryptophan				+

Tab. 3 Übersicht über die Na^+ unabhängigen Aminosäuretransporter und deren Substrate an der Blut-Hirn-Schranke (aus O’Kane et al., 2004).

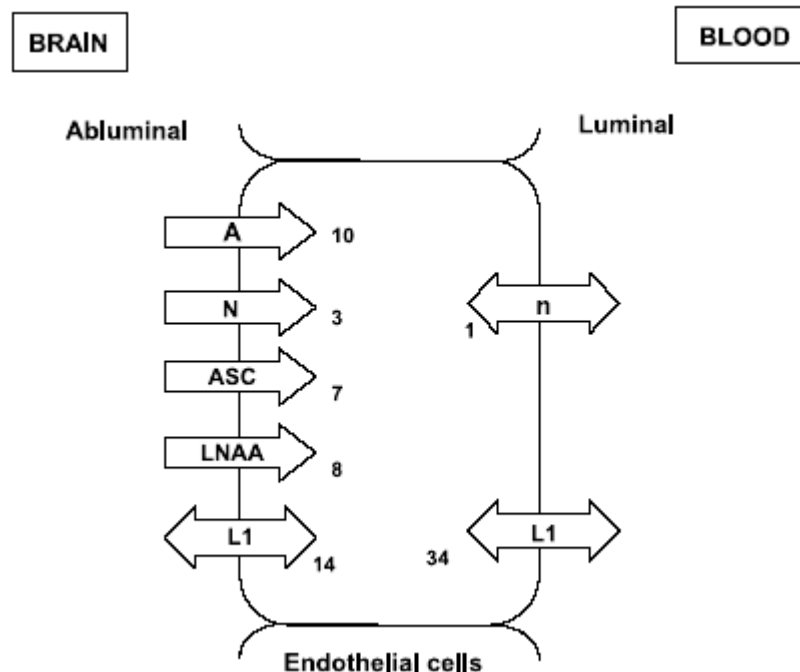


Abb. 55 Lokalisation und die jeweilige Clearance Rate der Carrier der neutralen Aminosäuren (aus O’Kane et al., 2004).

2. Transport von Kationischen Aminosäuren

Nach der alten Definition der Aminosäuretransporter: Na^+ Abhängigkeit und Substratspezifität der Aminogruppe (Deves und Boyd, 1998) sind für das erwachsene Säugetier vier Transportsysteme charakterisiert worden, welche sich in ihrer Spezifität, kationischen Abhängigkeit und physiologischen Rolle unterscheiden (Deves und Boyd, 1998). Dies sind das System y^+ , das System $\text{B}^{\text{O},+}$, das $\text{b}^{\text{O},+}$ System und das y^+L System (Deves und Boyd, 1998). Wobei nur das System y^+ spezifisch für die kationischen Aminosäuren ist, während die Systeme $\text{B}^{\text{O},+}$, das $\text{b}^{\text{O},+}$ System und das y^+L System auch neutrale Aminosäuren akzeptieren (Deves und Boyd, 1998). Auf der Grundlage von cDNA, die in diesem Zusammenhang isoliert werden konnte, war man in der Lage, zwei Proteinfamilien zu identifizieren: Erstens, die cationic amino acid transporter (CAT) und zweitens die broad-scope transportproteins (BAT). Die aus den zwei Isoformen rBAT und 4F2hc bestehende Familie der BAT besitzen ein Molekulargewicht, das zwischen 59 und 78 kDa liegt, des Weiteren haben sie 1 bis 4 Transmembransegmente (Deves und Boyd, 1998). Den BAT Proteinen werden den Transport regulierende Aufgaben zugesprochen (Deves und Boyd, 1998). So wird zum Beispiel bei den Oozyten von *Xenopus laevis* durch die Expression von rBAT und 4Fhc die Aktivität von den Systemen $\text{b}^{\text{O},+}$ und y^+L induziert (Deves und Boyd, 1998).

Das **System y^+** sorgt für den Transport von Aminosäuren mit kationischer Seitenkette, wie L-Arginin (Fenstermacher et al., 2001), Lysin und Ornithin (Deves und Boyd, 1998) und interagiert kaum mit neutralen Aminosäuren. Dieses System ist Na^+ unabhängig (Lefauconnier, 1992; Deves und Boyd, 1998) und folgt dem Prinzip der Trans-Stimulation (Lefauconnier, 1992).

Die **Systeme $\text{B}^{\text{O},+}$ und $\text{b}^{\text{O},+}$** zählen zu den „broad-scope transport“ Proteinen (BAT). Die beiden Systeme unterscheiden sich in ihrem Transportmechanismus. System $\text{B}^{\text{O},+}$ ist Na^+ abhängig, das $\text{b}^{\text{O},+}$ System ist Na^+ unabhängig (Deves und Boyd, 1998). Substrate von System $\text{B}^{\text{O},+}$ sind sowohl Lysin und L-Alanin, als auch andere bicyclische Aminosäuren (Deves und Boyd, 1998). Das $\text{b}^{\text{O},+}$ System ist bei niedriger Leucin- und Lysinkonzentration für die größte Transportmenge an Leucin (88%) und Lysin (98%) im Blut zuständig (Deves und Boyd, 1998).

Ein weiterer, zu den BAT Proteinen zählender, Transporter ist das **y⁺L-System**. Es ist ebenfalls Na⁺ abhängig (Deves und Boyd, 1998) und teilt sich beispielsweise das Substrat Lysin mit dem **y⁺System**, wobei es sich bei dem y⁺ System um einen Transporter mit einer niedrigen Affinität, aber hoher Kapazität handelt, der spezifisch für kationische Aminosäuren ist. Bei dem y⁺L System liegen die Verhältnisse umgekehrt dem **y⁺System**. Es besitzt eine hohe Affinität und eine geringe Transportkapazität für die Aminosäuren Leucin und Lysin (Deves et al., 1992). Die Substratspezifität des y⁺L Systems ähnelt in Anwesenheit von Na⁺ dem von b⁰,⁺, aber die zwei Systeme unterscheiden sich in ihrer Interaktion mit monovalenten anorganischen Kationen (Deves und Boyd, 1998). Das b⁰,⁺ System ist Na⁺ unabhängig. Beim y⁺L variiert die Spezifität in Abhängigkeit der ionischen Zusammensetzung des Mediums (Deves und Boyd, 1998). In einem Na⁺ oder Li⁺ enthaltendem Medium interagiert das y⁺L System sehr stark mit sowohl den neutralen, als auch den kationischen Aminosäuren, werden diese Ionen durch K⁺ ersetzt, sinkt die Affinität zu den neutralen Aminosäuren sehr stark (Deves und Boyd, 1998).

a) Kationische Aminosäure spezifische Transporter der CAT Familie

Die Codierung für die 4 Isoformen der CAT (CAT-1, CAT-2A, CAT-2(B)) findet sich auf 3 Genen, wobei die Vertreter dieser Familie in etwa 70 kDa groß sind und mehrere Transmembrandomänen besitzen (Aulak et al., 1996; Barbul, 1995; Baydoun und Mann, 1994). Trotz ihrer Ähnlichkeit im Aufbau, weisen die CAT doch einige Unterschiede in ihrer Verteilung im Gewebe, ihrer Kinetik und den regulatorischen Eigenschaften auf (Deves und Boyd, 1998). Der wichtigste Carrier für kationische Aminosäuren ist **CAT-1** (Fenstermacher et al., 2001). Der murine CAT-1 ist ein einfaches Polypeptid welches sich aus 622 Aminosäuren zusammensetzt, mit einem relativen Molekulargewicht von 67 kDa (Deves und Boyd, 1998). In Versuchen mit Oozyten von *Xenopus laevis* konnte gezeigt werden, dass CAT-1 für den Transport von L-Arginin, L-Lysin und L-Ornithin sorgt. Dieser Transport ist Na⁺ unabhängig und sättigbar (Kim et al., 1991; Wang et al., 1991). Die CAT-1 Transporter sind in allen Geweben des Körpers mit Ausnahme der Leber zu finden (Deves und Boyd, 1998).

CAT-3 ist ein gehirnspezifischer kationischer Aminosäuretransporter, bestehend aus 619 Aminosäuren. Sein Molekulargewicht liegt bei ~ 67 kDa (Deves und Boyd, 1998).

Der Arginin Transport von CAT-3 ist Na^+ unabhängig und nicht durch neutrale Aminosäuren beeinflusst (Deves und Boyd, 1998).

b) Organische Anionen Transporter Proteine

Die Vielzahl von gefundenen multispezifischen organischen Anionentransportern wird in zwei Hauptfamilien eingeteilt. Das sind zum einen die organischen Anionen Transporter „organic anion transporter“ (OAT) zum anderen die organischen Anionen Transportpolypeptide „organic anion transporter polypeptid“ (oatp) (Sekine et al., 2000). Bis jetzt wurden bei den Oatp's sieben Vertreter entdeckt, nämlich: oatp1, oatp2, oatp3, OAT-K1, OAT-K2, OATP, der Prostaglandintransporter (PGT), und den leberspezifischen Transporter-1 (LST-1) (Sekine et al., 2000). Der OAT Familie werden die Vertreter OAT1-4 zugerechnet (Sekine et al., 2000) (Tab. 4).

Organic anion transporter polypeptide (oatp) and organic anion transporter (OAT) families

OAT Processes	Cloning Source(s)	Substrate Specificity	Tissue Expression
Oatp family			
oatp1	Rat	Bile salts, steroid hormones, leukotriene C ₄ , bulky organic cations	Liver, CP, kidney
oatp2	Rat	Taurocholate, cholate, estrogen conjugates, ouabain, digoxin, DPDPE	Liver, kidney, BBB, CP
oatp3	Rat	Thyroxine, triiodothyronine, taurocholate	Kidney, retina
OAT-K1	Rat	Methotrexate, folate	Kidney
OAT-K2	Rat	Taurocholate, methotrexate, folate, prostaglandin E	Kidney
OATP (OATP-A)	Human	Bromosulfophthalein, cholate, taurocholate, glycocholate, taurochenodeoxycholate, tauroursodeoxycholate, opioid peptides (deltorphin II, DPDPE)	Liver, BBB, lung, kidney, testes
PGT	Rat	Unknown	Unknown
LST-1	Human, rat	Taurocholate	Liver
OAT family			
OAT1	Human, rat	PAH, dicarboxylates, cyclic nucleotides, prostaglandin E, urate, μ -lactam antibiotics, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, diuretics	Kidney, brain
OAT2	Rat	PAH, salicylate, acetylsalicylate, prostaglandin E, dicarboxylates	Liver, kidney
OAT3	Human, rat	PAH, cimetidine, estrone sulfate	Liver, brain, kidney, eye
OAT4	Human	Estrone sulfate, DHEA sulfate	Kidney, placenta

DPDPE, [D-Pen(2), D-Pen(5)]enkephalin; PAH, p-aminohippurate; DHEA, dehydroepiandrosterone (Sekine et al., 2000).

Tab. 4 Zeigt die Vertreter der Organischen Anionen Transporter, ihre Substrate und die jeweiligen Hauptfundorte (aus Sekine, 2000).

Kusuhara und Sugiyama (2001a) rechnen zu den für die Blut-Hirn- beziehungsweise die Blut-Liquor-Schranke wichtigen organischen Anionentransportern oatp 1, oatp2, OAT1, OATP/OATP A, Oat1, OAT1, Oat3. In der Ratte wurde das oatp1 im Plexus choroideus an der ventrikulär gelegenen Membran nachgewiesen (Angeletti et al., 1997). Oatp2 scheint mit der basolateralen Plexusmembran assoziiert zu sein (Noe et al., 1997; Gao et al., 1999) in den Gehirnkapillaren aber sowohl luminal wie abluminal vorhanden zu sein (Gao et al., 2000), was zur Annahme führt, dass der Carrier

für die Versorgung des Gehirnes mit seinen Substraten zuständig ist (Kusuhara und Sugiyama, 2001a). Die Hauptaufgabe der OAT Familie scheint die Beseitigung der Organischen Anionen aus der Niere zu sein (Lee et al., 2001) da dort alle Isoformen zu finden sind (Sekine et al., 2000). Diese Transporter besitzen 12 Transmembrandomänen mit einer großen hydrophoben Schleife (Sekine et al., 2000) (Abb. 56).

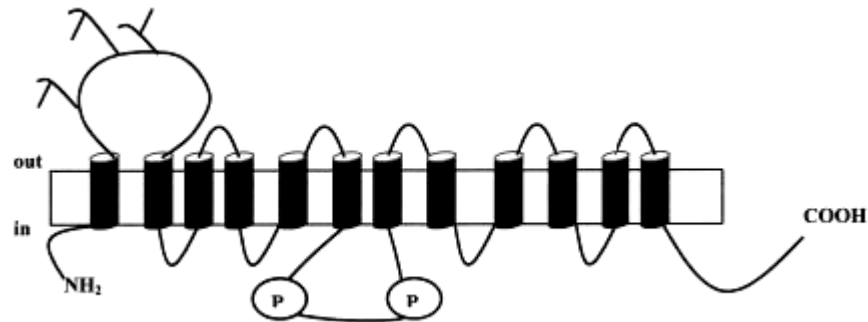


Abb. 56 Schema der Struktur von OAT1 der Ratte mit 12 Transmembrandomänen (Sekine et al., 2000).

Die Familie der oatp besitzt 12 die Membran durchspannende Segmente. Das von Abe et al. (1998) identifizierte oatp3 besteht aus 670 Aminosäuren. Man nimmt an, dass die oatp multifunktionelle Transporter sind, die für den Transport, beispielsweise der Schilddrüsenhormone Thyroxin und Trijodthyronin, in das Gehirn aber auch in die Leber, Niere und Retina verantwortlich sind (Abe et al., 1998).

c) ABC Transporter

Die ATP Bindungs Kassetten (ATP-binding cassette = ABC) Transporter repräsentieren eine sehr große Familie, diese spielt eine essentielle Rolle in vielen zellulären Prozessen (Dean und Allikments, 2001).

Zu den ABC Transportern zählt man im humanen Genom 48 Mitglieder (Märten, 2004). Wobei nicht bei allen klar ist, ob sie als Protein letztendlich auch vom Körper gebildet werden, oder ob nur ein Genort für das jeweilige Protein vorhanden ist, sie also nur ein Pseudogen darstellen (Märten, 2004). Die Aufteilung erfolgt in 7 Sub-Familien (Dean und Allikments, 2001). Eine aktuelle Übersicht über die Nomenklatur

der unterschiedlichen Mitglieder ist im Internet unter www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/genefamily/abc.html zu finden.

Allen ABC-Proteinen ist gemein, dass sie ATP binden und diese Energie dazu nutzen, Moleküle durch die Zellmembran zu schleusen (Dean und Allikments, 2001). Meist stellen hydrophobe Substanzen das transportierte Substrat dar. Die ABC Gene sind aber auch in der Lage, Metallionen, Peptide und unterschiedliche Zucker zu transportieren (Dean und Allikments, 2001). Zusätzlich haben viele ABC Gene eine Aufgabe als Steuerungselemente, so dass sie sowohl in genetischen Krankheiten, als auch bei der Überexpression in „drug resitant cells“ eine Rolle spielen (Dean und Allikments, 2001). An dem funktionellen Protein sind 2 ATP Bindungsdomänen oder Nucleotidbindungsfelder und 2 Transmembrandomänen zu finden (Dean und Allikments, 2001).

So undurchlässig, wie einem das Wort „Barriere“ glauben lässt, ist die BHS und BLS jedoch nicht. Viele Stoffe, für die die BHS bisher als impermeabel galt, gelangen, jedoch nur in sehr kleinen Mengen, durch sie hindurch (Fenstermacher et al., 2001). Die Transportmechanismen an der Blut-Hirn-Schranke zu kennen und zu verstehen ist sehr wichtig, um weitere hirngängige Medikamente und in vitro Modelle sowohl für die BHS, als auch die BLS zu entwickeln, da die klassische „trial and error“ Methode (Abott et al., 2001) überholt sein dürfte. Viele Arbeitsgruppen beschäftigen sich deshalb mit dieser Thematik und unterschiedlichste Ansätze zur Überwindung der BHS werden geprüft (Padridge, 1998, Padridge, 2003; Strazielle und Gherzi-Egea, 2000; Terasaki et al., 2003) (Abb. 57), um nicht nur Medikamente mit niedrigen Molekulargewicht, wie sie bisher für die Therapie von Depression, Schizophrenie und Epilepsie zur Verfügung standen, sondern auch Medikamente mit höherem Molekulargewichten zu entwickeln, die dringend für die Behandlung von Alzheimer, Parkinson, cerebralen AIDS, Gehirntumoren usw. gebraucht werden (Padridge, 2001b). Deshalb gewinnen moderne Methoden, wie das MRI, immer mehr in der Hirn- und Hirnbarriereforschung an Bedeutung (Greig et al., 2001; Koretsky, 2004).

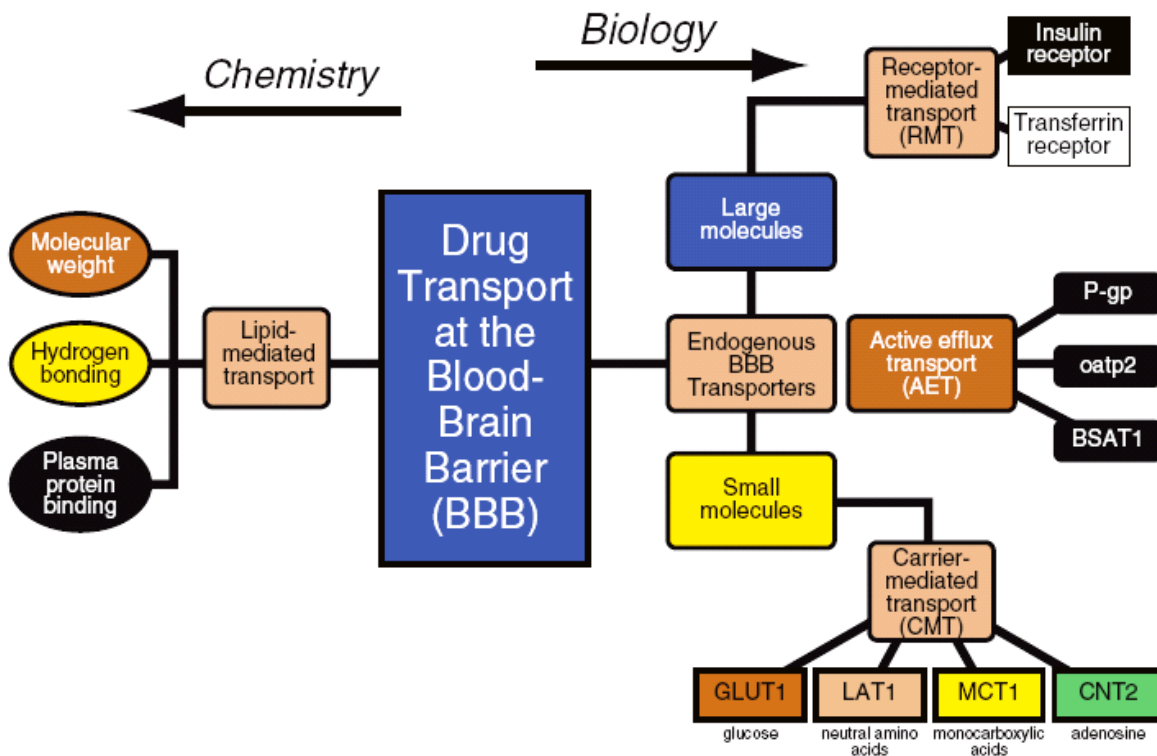


Abb. 57 Schema das die verschiedenen Transportmechanismen und Ansätze zur Entwicklung hirngängiger Medikamente zeigt (aus Padridge, 2001 c).

3. Transportproteine, die an der metabolischen Blut-Hirn-Schranke beteiligt sind

Die unterschiedlichen Komponenten der metabolischen BHS müssen aber immer im Zusammenhang mit den endogenen Transportmechanismen gesehen werden (Padridge, 2003). Die enzymatischen Systeme, die den Übertritt von Molekülen durch das Endothel reduzieren, können sich sowohl auf der Endothelplasmamembran, der Perizytenplasmamembran oder auch auf dem Astrozytenendfuß befinden (Padridge, 2003). Die Gehirnendothelzellen und der Perizyt der Hirnkapillare, welcher sich auf der zerebralen Seite des Endothels befindet, teilen sich eine gemeinsame mikrovaskuläre Basalmembran (Padridge, 2003). Nahezu 100% der Oberfläche der Kapillarasalmembran sind von Astrozytenendfüßchen bedeckt, wobei der Abstand zwischen Kapillarendothel und der Endfußmembran gerade mal 20 nm beträgt (Padridge, 2003). Tatsache ist, dass die Reglementierung des Substrataustausches durch die BHS von einem Zusammenspiel des Endothels, der Perizyten und Astrozytenendfüßchen bewerkstelligt wird (Padridge, 2003).

4. Multidrug-Resistenz-Proteine

Diese Proteine sorgen dafür, dass in die Zelle gelangte Fremdstoffe wieder zurück ins Blut transportiert werden. Man geht davon aus, dass diese Proteine z. B. für 50% der fehlgeschlagenen Chemotherapien bei Tumorpatienten verantwortlich sind (Drewe und Krähenbühl, 2000). Bei den Multidrug-Resistenz-Proteinen werden folgende Gruppen unterschieden:

- MRP1-7: „multidrug resistance proteins“ sind Rücktransporter für glutathion-, glucuronat- und sulfatkonjugierte Stoffe (Campbell et al. 2004; Lee et al. 2001; Wijnholds et al., 2000).

- P-glykoprotein-MDR1 und 3: „P-glycoprotein-mediated multidrug resistance“ ist ein Protein, welches im Gehirnkapillarendothel und im Epithel der Plexus choroidei in hoher Konzentration zu finden ist und einige, vor allem auch lipophile Substanzen aus den Endothelzellen, wieder in das Blut zurücktransportieren kann (Gherzi-Egea et al., 2001; Rao et al., 1999; Rubin und Staddon, 1999; Suzuki et al. 1997).

P-glykoprotein-MDR1 besitzt eine breite Substratspezifität z. B. für Makrolid-Antibiotika wie Erythromycin, Immunsuppressiva wie Ciclosporin und Steroidhormone wie Östrogen (Drewe und Krähenbühl, 2000). Andere Studien legen nahe, dass sich das P-Glycoprotein hauptsächlich auf den Astrozytenendausläufern befindet und nicht im Kapillarendothel (Padridge, 1997). Eine Folge der Aktivität von dem P-Glycoprotein ist, dass der Netto-Influx von hydrophoben Substanzen wie Ivermectin, Digoxin und Loperamid, um nur einige zu nennen, in das Gehirn sehr niedrig ist (Schinkel et al., 1996). Neuere Untersuchungen versuchen, um ein besseres Verständnis gegenüber der Struktur und der Funktion des P-Glycoproteins zu erlangen, mit unterschiedlichen Methoden dreidimensionale Modelle zu erstellen (Lee et al., 2002; Seigneuret und Garnier-Suillerot, 2003, Stenham et al., 2003), wie beispielweise in (Abb. 58) zu sehen ist.

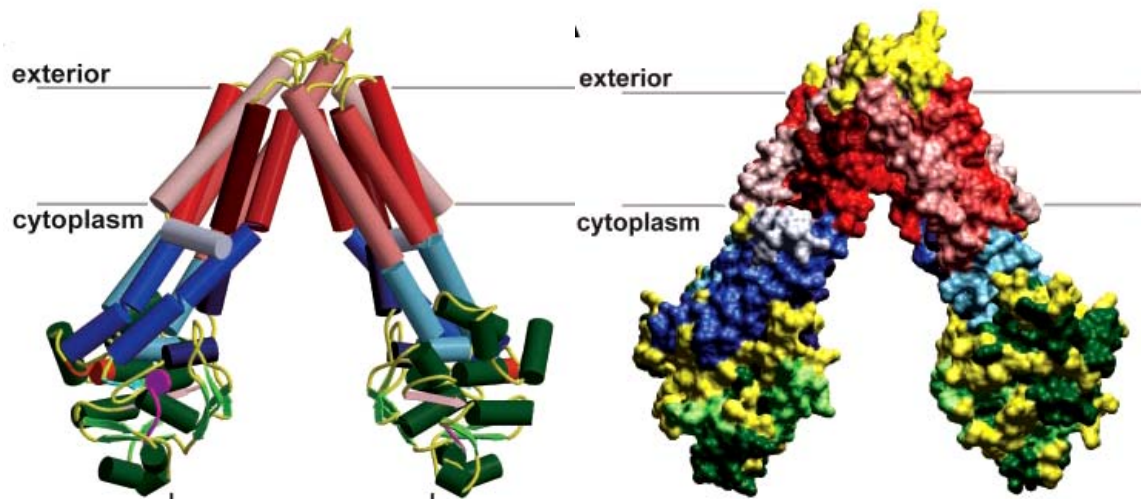


Abb. 58 Ein Bandmodell des P-Glycoproteins in Seitenansicht (links) in der Gegenüberstellung zu einem Modell welches die molekulare Oberflächenstruktur des Transporters (rechts) zeigt (aus Seigneuret und Garnier-Suillerot, 2003).

V. Besonderheiten in der Struktur der BHS und BLS während der embryonalen und fetalen Phase

Die Blutgefäße entwickeln sich schon früh in der Embryonalzeit, da schon bald die Versorgung der Frucht, allein durch Diffusion, nicht mehr gewährleistet ist. Die ersten Strukturen, die dem Bereich der Blut- und Gefäßentwicklung zurechenbar sind, werden als Blutinseln bezeichnet (Risau, 1991). Dies sind zystenartige Strukturen, die die Vorläuferzellen der Blutgefäße und auch der Blutzellen bilden. Hierbei liegen die Vorläufer der hämatopoetischen Zellen als Zellcluster innen in der Blutinsel; die vorherbestimmten Endothelzellen, die sogenannten Angioblasten, bilden die Außenschicht. Bei der Gefäßentwicklung, Vaskulogenese genannt, unterscheiden sich zwei differente Vorgänge: die Vaskulogenese sensu stricto und die Angiogenese. Bei der Vaskulogenese sensu stricto handelt es sich um eine Differenzierung von Mesenchym zu Endothel. Diese Vorgänge sind hauptsächlich im ventralen Mesenchym der Leber, Milz und des Darmes zu finden. Diese angioblastische Genese findet nur während der Embryonalentwicklung statt und ist bei Adulten nicht mehr zu finden (O’Rahilly und Müller, 1996). In neueren Untersuchungen finden sich allerdings Hinweise, dass die Vaskulogenese entgegen der bisherigen Lehrmeinung auch postnatal stattfinden kann (Ashara et al., 1997; Ashara et al., 1999; Shi et al., 1998). Die Vaskulogenese beginnt zuerst außerhalb des Embryos, die Gefäße wachsen dann auf die Frucht zu und sprossen später ein. Das vaskuläre System entwickelt sich, nachdem die Angioblasten einen perineuralen Plexus gebildet haben, der ab Tag 2 beim Hühnerembryo oder Tag 10 des Rattenembryos die ganze Neuralleiste bedeckt (Bär, 1980; Risau und Wolburg, 1990; Dermitzel und Krause, 1991). Unabhängig von der Vaskulogenese sensu stricto entwickelt sich die Angiogenese, die auch beim Erwachsenen noch während der Wundheilung stattfindet. Bei der Angiogenese wandert und sprosst bereits differenziertes Endothelgewebe strahlenförmig weiter und bildet so ein Geflecht von Gefäßen. Diese Entwicklung findet hauptsächlich am dorsalen Mesenchym statt, so z. B. an Niere und Gehirn. Die Entwicklung der Blutgefäße im Gehirn ist unabhängig von der Vaskulogenese. Ab dem 4. Embryonaltag beim Huhn und Tag 11 bei der Ratte, fangen die Blutgefäße vom perineuralen Plexus, an in das

neuronale Gewebe des Gehirns einzusprossen (Bär, 1980; Risau und Wolburg, 1990).

Sowohl bei der Angiogenese sensu strictu, als auch bei der Angiogenese, vermehren sich Endothelzellen und setzen sich schließlich zu Röhren mit engen Zellkontakten zusammen. Durch Periendothelzellen werden diese Rohre stabilisiert. Sie differenzieren sich bei größeren Gefäßen zu glatten Muskelzellen, bei Kapillaren, die keine glatten Muskelzellen besitzen zu Perizyten (Rhodin, 1968; Drenckhahn, 2004). Der Übergang fenestrierter Kapillaren der frühen Entwicklungsstufe (Yoshida et al., 1988) zu ausgereiften Kapillaren, die einen Blut-Hirn-Schranken Charakter besitzen, geht mit einem Wechsel in der Zellmorphologie, der Biochemie und der Funktion einher (Nico et al. 1992). So nimmt zum Beispiel der transendotheliale Widerstand mit der Entwicklung der TJ's immer weiter zu (Stewart und Hyakawa, 1987; Schulze und Firth, 1992). So konnte Butt et al. (1990) zeigen, dass der TEER bei Rattenembryonen um den Embryonaltag 20 bei ca. 310 Ohm/cm² liegt und sich später auf über 1000 Ohm/cm² erhöht. Das Gefäßwachstum und die Differenzierung zu Endothelien mit Blut-Hirn-Schranken Charakteristika finden nicht im gesamten Gehirn gleichzeitig statt. Sie ist orts- und zeitabhängig, wobei sie aber einem klaren Zeitplan folgt. Es gibt also ein reproduzierbares Muster der Gehirnvaskularisierung beim Säugetier (Bär, 1980; Kuban und Gilles, 1985). Ebenso ist es möglich, durch Transplantation von zerebralem Gewebe von einem Speziesverwandten zum Anderen, wie beispielsweise von der Wachtel auf das Huhn, das zerebrale Gefäßwachstum, und auch die Differenzierung zu Blut-Hirn-Schranken Endothel zu übertragen (Stewart und Wiley, 1981; Risau et al., 1986).

Einige Zeit wurde angenommen, dass der FGF (fibroblast growth factor), der einige mitogene Wirkungen in in vitro Versuchen zeigte und als potenter Angiogenesefaktor galt, wahrscheinlich für die Angiogenese im Gehirn verantwortlich ist (Vlodavsky et al, 1987; Ingber et al., 1987; Folkman und Klagsbrun, 1987). Spätere Untersuchungen zeigten jedoch, dass die FGF- und die Angiogenesentwicklung unterschiedlichen Mustern folgt (Schnürch und Risau, 1991). Mit dem VEGF (vascular endothel growth factor) wurde ein neuer Angiogenese Faktor entdeckt (Senger et al., 1983).

VEGF wird an vielen unterschiedlichen Orten des Körpers produziert, so beispielsweise an der Aorta, den folikulären Epiphysenzellen, aber auch in bestimmten Tumorzellen. Im Gegensatz zu anderen Mitogenen ist die Wirkung von VEGF sehr spe-

zifisch auf kultivierte Endothelzellen ausgerichtet (Ferrara und Hanzel, 1989; Leung et al., 1989). Kurze Zeit später wurde bewiesen, dass der davon unabhängig gefundene VPF (vascular permeability factor) und der VEGF identisch sind (Senger et al., 1983; Keck et al., 1989). VPF ist für die vaskuläre Durchlässigkeit in vivo verantwortlich. In Experimenten mit der Maus konnte 1992 gezeigt werden, dass die spatiale und temporale Expression von VEGF gut mit der Angiogenese im Gehirn während der Embryonalzeit korreliert (Breier et al., 1992; Plate et al., 1992), wobei VEGF nach Abschluss der Vaskularisation, also im Erwachsenen Gehirn, kaum mehr in den Ependymzellen nachzuweisen ist (Robertson et al., 1985). Man hält es für erwiesen, dass VEGF der wichtigste Regulator und Mitogenesefaktor in der Gehirnangiogenese ist. Wie schon vorhergehend erwähnt, findet die Barrierogenese nicht in allen Gehirnarealen gleichzeitig statt. Es nimmt auch die Dichtigkeit des Endothels während der Entwicklung immer weiter zu, so dass das Gehirnparenchym ab Tag 14 der Embryonalentwicklung für die Meerrettichperoxidase nicht mehr erreichbar ist; die BHS gegenüber Ionen ist aber erst postnatal vollständig intakt (Butt et al., 1990).

Als sicher gilt, dass bei Ratte bis Tag E 15 und beim Huhn bis Tag E 13 keine ausgereifte BHS zu finden ist, was durch die strukturellen und funktionellen Unterschiede der TJ zwischen dem embryonalen und adulten Gehirn begründet zu sein scheint (Stewart und Hawakawa, 1994) (Abb. 59). Im embryonalen Gehirn gibt es kaum Astrozyten. Radialgliazellen sind die einzigen Gliazellen die mit cerebralen Kapillaren engen Kontakt haben und auch diese sind nicht sehr häufig (Haseloff et al., 2005). Es gibt jedoch Wissenschaftler, die das anders sehen, und keine Korrelation zwischen dem beim Schaffetus untersuchten minimalen Änderungen in der TJ-Struktur und dem großen Rückgang der Permeabilität, sowohl bei der BHS, als auch der BLS, in jenem Zeitraum sehen (Møllgård et al., 1976). Saunders et al. (1999), kommen zu dem Schluss, dass schon beim fötalen Gehirn einige Schlüsselmechanismen der Blut-Hirn-Schranke etabliert sind, teilweise auch mit Mitteln, die nicht mehr im adulten Gehirn zu finden sind. So sind in immaturren Blut-Liquor-Schranken Junctiontypen zu finden, wie strap junctions, wafer junctions, plate junctions, die bei den maturen Organen durch TJ verdrängt werden (Saunders et al., 1999).

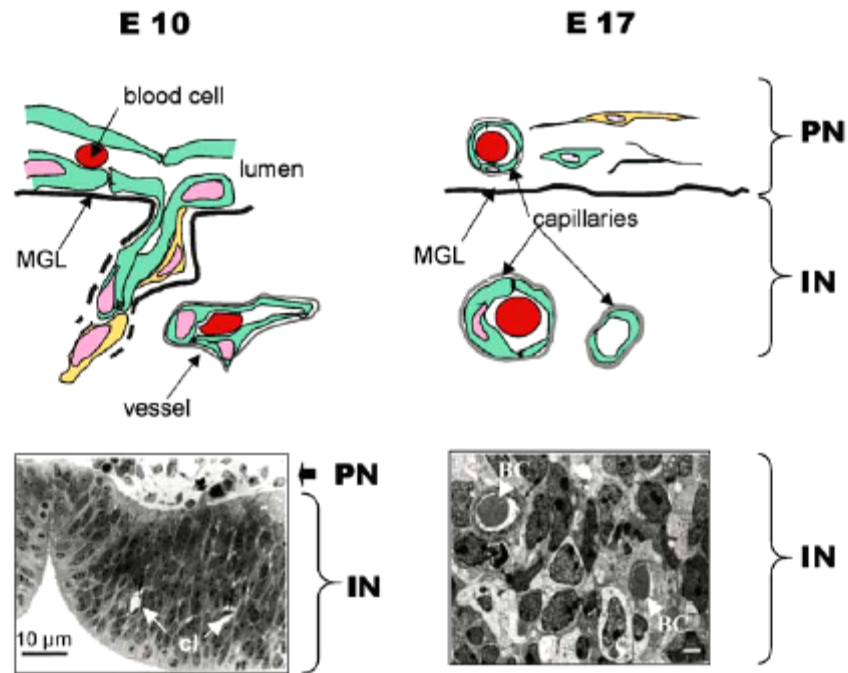


Abb. 59 Zeigt mikroskopisch und schematisch die ontogenetische Vermehrung der BHS. Am Tag E 10 wird die intraneurale Zone von einem bereits existierenden perineuralen Plexus aus vaskularisiert und bereits an Tag E 17 ist die fehlende Fenestrierung und das Vorhandensein von junctionalen Komplexen zu sehen. Eine funktionelle BHS existiert bereits zu diesem Zeitpunkt. MGL: membrana glia limitans; IN: intraneurale Zone; PN: perineurale Zone; die Pfeile in den unteren Abbildungen deuten auf angeschnittene Kapillaren (cl) und Blutzellen (BC) (aus Risau, 1997).

Die Plexus choroidei entwickeln sich bei den Säugern kurz nach dem Schluss des Neuralrohres. Schon zu diesem Zeitpunkt ist das Rohr mit einer Flüssigkeit gefüllt, deren Herkunft noch nicht geklärt ist (Dziegielewska et al., 2001). Diese Flüssigkeit gilt als Vorläufer des Liquors (Dziegielewska et al., 2001). Die Plexus etablieren sich an dem Dach der Ventrikel, in der Reihenfolge vierter Ventrikel, Lateralventrikel und dritter Ventrikel (Dziegielewska et al., 2001). Die Plexus erscheinen als Invaginationen von epithelialen Gewebe mesenchymalen Ursprungs, welches an den Stellen der Ventrikel in das Neuronalrohr hinein ragt (Dziegielewska et al., 2001) (Abb. 60).

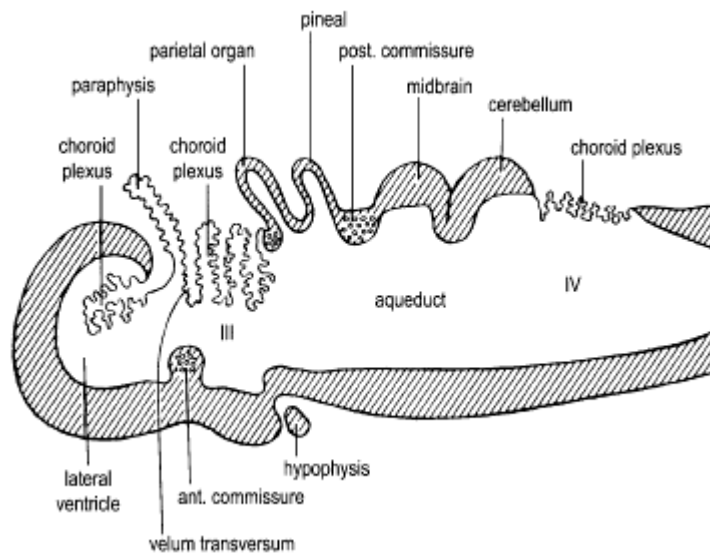


Abb. 60 Die Lage der einzelnen Teilbereiche des fetalen Gehirns ist in obiger Abbildung in einem Sagittalschnitt dargestellt. Der Plexus des IV. Ventrikels entwickelt sich vor denen, die in den lateralen Ventrikeln liegen. Zuletzt bildet sich der Plexus im III. Ventrikel (aus Netsky und Shuangshoti, 1975).

Die Größenverhältnisse der Plexus, während der frühen Entwicklung des Gehirns, liegen umgekehrt proportional zu dem Adultgehirn, in dem sie relativ klein sind (Dziegielewska et al., 2001). Da die Plexus während eines Zeitpunkts erscheinen, an dem die Vaskularisierung des Gehirngewebes noch recht spärlich ausgebildet ist, liegt der Schluss nahe, dass sie in dieser Zeit quantitativ gesehen, in deren Ernährung eine wichtigere Rolle spielen, als in den späteren Entwicklungsstadien (Dziegielewska et al., 2001). Der Zeitpunkt, in dem sich der Plexus bei den einzelnen Spezies entwickelt, ist sehr unterschiedlich, was wohl mit den unterschiedlichen Gestationslängen im Zusammenhang steht (Dziegielewska et al., 2001). So erscheint der Plexus beim Schaf am E15, während die Geburt um E 150 stattfindet. Bei den Beuteltieren ist selbst nach der Geburt noch kein vollständig ausgebildeter Plexus zu finden oder nur in einem Teil der Ventrikel vorhanden (Abb. 61). Im Rattenfetus ist der Plexus choroideus des IV. Ventrikels ab dem 12. Embryonaltag vorhanden, in den lateralen Ventrikeln einen Tag später und im III. Ventrikel ab E 16 zu sehen (Dziegielewska et al., 2001).

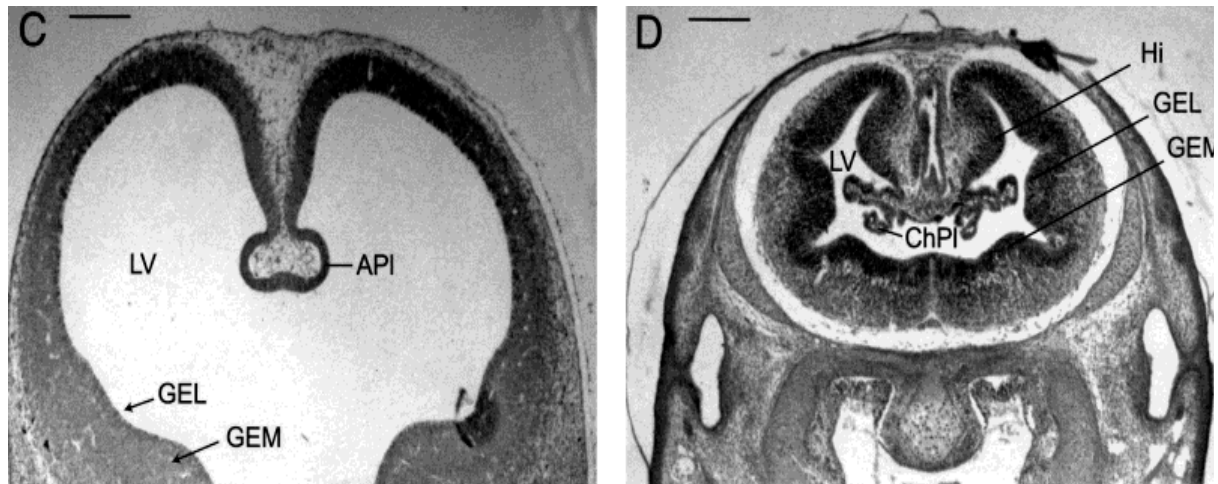


Abb. 61 Die frühen Entwicklungsstufen der Plexus sind in obigen Aufnahmen sichtbar. C: stellt einen Querschnitt durch das Gehirn eines Rattenfetus am Tag E 14 dar; D: zeigt den Gehirnquerschnitt eines neonatalen *Monodelphis*. LV: lateraler Ventrikel; ChPI: Plexus choroideus; API: fetale Anlagen des Plexus choroideus; GEL: laterale Ganglionische Eminenz; GEM: mediale Ganglionische Eminenz; Hi: Hippocampus.

Balkenlänge: in A 100 μ m in B 200 μ m (aus Dziegielewska et al., 2001).

Nach Netsky und Shuangshoti (1975) lässt sich die Entwicklung der Plexus im humanen Fetus in 4 Stufen einteilen, wobei sie hier histologische Gesichtspunkte ansetzten und das Vorhandensein von Glycogen in den epithelialen Zellen:

- Im ersten Stadium sind die Epithelzellen hohe, pseudogestreifte Zellen und besitzen einen zentralisierten Zellkern. Glykogen ist keines vorhanden.
- In Stadium Zwei nehmen die Epithelzellen eine säulenförmige Struktur an, der Kern befindet sich apikal. Die Zellen besitzen kein Glycogen.
- Stadium Drei ist durch kubische Epithelzellen gekennzeichnet, in denen der Kern apikal oder zentral liegen kann und moderate Mengen von Glycogen vorhanden sind.
- Im vierten Stadium haben die Epithelzellen kubische oder schuppenartige Form, der Kern liegt zentral oder basal und Glycogen fehlt.

Auch in den anderen Spezies sind diese Vier Stadien in gleicher Reihenfolge, aber in unterschiedlichen Längen und Zeitpunkten zu finden (Dziegielewska et al., 2001).

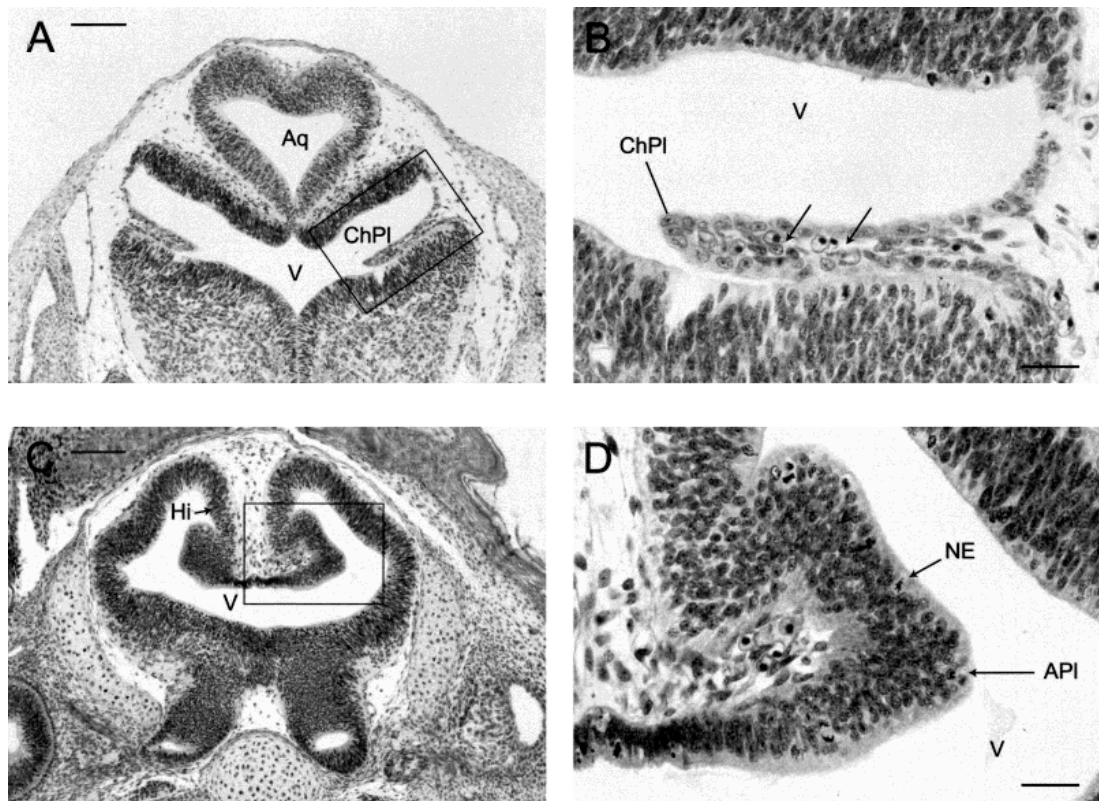


Abb. 62 Diese elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen das cerebrale Ventrikelsystem und den Entwicklungsstand des Plexus choroideus zum Zeitpunkt der Geburt bei *Sminthopsis crassicaudata*. Die Kalotte wurde querschnitten, mit Toluidinblau angefärbt. Zu sehen sind jeweils der IV. Ventrikel bei niedriger (A) und hoher (B) Vergrößerung und die lateralen Ventrikel bei niedriger (C) und hoher Vergrößerung (D). Gut erkennbar sind in A und B die Zellschicht aus Epithelzellen, die das mesenchymale Gewebe umgibt und die ersten, in die Plexusanlage einsprossenden Gefäße, am IV. Ventrikel. In den lateralen Ventrikel jedoch ist noch keine Plexusanlage erkennbar, die Zellen sind undifferenzierte Neuroepithelzellen (NE), die sich später in die, die Ventrikel auskleidenden Zellen und in die Epithelzellen des Plexus choroideus weiter differenzieren. V: Ventrikel; Aq: Aquaduct ChPI: plexus choroideus; API: Anlage des Plexus choroideus; Hi: Hippocampus; V. Balken in A und C 200 μm , in B und D 20 μm (aus Dziegielewska et al., 2001).

VI. Abkürzungsverzeichnis und Glossar

AGEs: Advanced Glycation Endproducts. Im Körper bei der Maillard Reaktion, aus Blutzucker und Serumproteinen entstehende Verbindung, die im Verdacht steht, bei der Mikroangiopathie eine Rolle zu spielen.

Angioblasten: Vorläuferzellen der Endothelzellen, die sich intraembryonal aus mesenchymalen Zellen zu entwickeln scheinen (Poole und Coffin, 1988).

Angiogenese: Gefäßentwicklung, wobei durch Sprossung bereits bestehender Gefäße, neue Gefäße entstehen (Folkman, 1994); findet sowohl in der Embryonalentwicklung, als auch beim Erwachsenen, während der Wundheilung, der Gravidität oder dem Zyklusgeschehen statt. Siehe auch Vaskulogenese oder Intussuszeption.

apikal: die luminale Seite des Kapillarendothels -> basolateral

BAT: broad-scope transport protein ein Transporterprotein für kationische Aminosäuren zwei Isoformen: rBA_t, 4F2hc

basolateral: abluminale Seite des Kapillarendothels -> apikal

bFGF: basic fibroblast growth factor

BHS: Blut-Hirn-Schranke

BCEC: Brain Capillar Endothel Cell

BLS: Blut-Liquor-Schranke

Caco 2 Zellen: Zelllinie aus humanen Adenokarzinom Zellen des Kolon (Fogh et al., 1977).

CAT: cationic amino acid transporter, ein Transporterprotein für kationische Aminosäuren; 4 Isoformen: CAT-1; -2A; -2(B); -3.

- Claudine: Claudin 1 und 2 neben Occludin weitere Transmembranproteine der TJ (Furuse et al., 1998 a); Claudine bilden wahrscheinlich das Rückrat der TJ (Tsukita et al., 2001), die Claudinfamilie umfasst mehr als 24 Vertreter (Morita et al., 1999a, b).
- COT: organic cation transporter (Müller, 2005)
- COTN: „organic cation transporter „mit N Bindungsstelle (Drewe und Krähenbühl, 2000)
- CVO: Circumventrikuläre Organe, dazu gehören z.B. Plexus choroideus, Hypophyse und Epiphyse
- Desmosom: Haftplatten, sie dienen dem Zusammenhalt von Epithelzellen. Sie sind als punktuelle Verdichtungen oder Knötchen erkennbar, der Aufbau ähnelt einem „Druckknopf“, da jeweils zwei scheibenförmige Hemidesmosomen einer Zelle sich gegenüberliegen. Die Hemidesmosome sind über Filamente des Zytoskeletts mit Verankerungsproteinen verbunden (Baumhoer et al., 2000). Der Interzellularspalt ist im Desmosombereich 20-40 nm groß. Desmosomen besitzen eine hohe mechanische Belastbarkeit und sind deshalb sehr häufig in Epithelien zu finden.
- E-face: extrazelluläre Seite der Lipid-Doppelschicht -> P-face
- Ependym: ektodermale, einschichtige Zellauskleidung (Gliazellen) der Hirnhöhlen und des Zentralkanal des Rückenmarks. Ependymzellen, die meist Kinozilien tragen, bilden ein kubisches bis hochprismatisches Epithel (Junqueira et al., 2004).
- FGF: Fibroblast Groth Factor; Fibroblasten Wachstums Faktor, unter anderem von Gehirn und Hypophyse ausgeschüttet, hat mitogene Wirkung auf Fibroblasten, Gliazellen und Endothelzellen.

Gap junctions: (Nexus, Maculae communicantes) diese Zellkontakte sind weit verbreitet und erlauben die Kommunikation zwischen benachbarten Zellen. Der hier 2-5 nm große Interzellularspalt wird, durch Proteinkomplexe, Connexine genannt, überbrückt, in deren Inneren Kanäle verlaufen, über die kleine wasserlösliche Moleküle und auch elektrische Signale ausgetauscht werden können (elektrische und chemische Kopplung). Gap junctions dienen so dem Informationsaustausch und der Ernährung von Zellen. Sie sind keine starren Gebilde, sondern können sich pH- und hormonabhängig öffnen oder schließen (Baumhoer et al., 2000).

GFAP: aus dem englischen „glial fibrillary acid protein“ Protein aus dem die Intermediärfilamente der Astrozyten aufgebaut sind (Junqueira et al., 2004).

GLUT: Glucosetransporter, bisher beschrieben GLUT 1-12 und HMIT (Joost und Thorens, 2001) wobei bestimmte Transporter spezifisch für bestimmte Gewebe sind.

Haftproteine: Integrine: sorgen für die Verankerung mit der extrazellulärer Matrix

HMIT: H(+)-Myo-Inositol Cotransporter gehört zu der GLUT Familie (Uldry und Thorens, 2004).

Cadherine: wichtig bei der Bildung von epithelialen Zellverbänden

Selektine: sorgen für Bindung gleichartiger Zellen und Abstoßung andersartiger Zellen (Baumhoer et al., 2000).

Intussuszeption: nicht sprossende Angiogenese, bei der Gefäße durch transkapilläre Pfeiler geteilt, und so vervielfältigt werden. Sie sind an Herz, Lunge und Chorioallantoismembran zu finden (Burri, 1992; Djonov et al., 2000; Patan et al., 1996; Van Groningen et al., 1991) -> Angiogenese, Vaskulogenese.

JEAP: „junction-enriched and -associated protein“ TJ assoziiertes zytosolisches Protein (Nishimura et al., 2002).

JACOP:	„junction associated coiled-coil protein“ (Ohnishi et al., 2004).
JAM:	junctional adhesion molecule; letztes identifiziertes TJ assoziiertes Transmembranprotein; vermutlich lateral mit den Claudinen verbunden; bisher drei Vertreter entdeckt (Aurrand-Lions et al.; Palmeri et al., 2000); zählen zur Immunglobulin-Superfamilie, eine Transmembrandomäne.
LAT:	„large neutral amino acid transporter“ Transporter für große neutrale Aminosäuren, bestehend aus LAT 1 und LAT 2 sind aus dem ursprünglichen L System hervorgegangen, Na^+ unabhängig, luminal und abluminal vorhanden, funktioniert nach dem Prinzip der erleichterten Diffusion (Joost und Thorens, 2001; Jain-Vakkalagadda et al., 2003).
L System:	Transportsystem für große neutrale Aminosäuren wurde in die LAT's aufgeteilt (Joost und Thorens, 2001; Hyde et al., 2003)
Leptomeninx:	eine zarte Hülle der weichen Hirnhaut, in der sich wiederum eine äußere Schicht, Arachnoidea genannt, und eine innere Pia mater unterscheiden lassen (Sinowatz, 1992).
MAGI:	“MAGUKS with Inverted domain structure” zwei Mitglieder dieser MAGUK-Unterfamilie sind mit TJ assoziiert MAGI 1 und 3 (Laura et al., 2002)
MAGUK:	membrane-associated guanylate kinase
K_M :	Michaelis-Menten-Konstante: entspricht der Substratkonzentration bei der das Enzym die halbmaximale Umsetzungsgeschwindigkeit erreicht (Horn et al., 2003).
MDR:	multidrug resistance protein
MRPs:	multi drug resistance associated protein, Proteine die bestimmte Substanzen, wie Medikament-Metaboliten erkennen und wieder aus dem Hirngewebe ins Blut befördern; das Gehirn wird geschützt bestimmte Therapien werden erschwert MRP 1-7 (Berezowski et al., 2004).

MMP:	Matrixmetallproteasen; körpereigene calciumabhängige Endopeptidasen, können Extrazelluläre Matrix abbauen und sind somit mit für den physiologischen Gewebeumbau während des Wachstums und der Ontogenese verantwortlich. Entgleisungen können jedoch zu pathologisch erhöhten Gewebsabbau bzw. -umbau führen.
mRNA:	messenger Ribonukleinsäure, durch Transkription dann erzeugter einzelständiger RNA, die als Matrizen RNA für die Proteinbiosynthese dient.
<i>Monodelphis domestica</i> : Spitzmausbeutelratte	
MUPP1:	„multi-PDZ domain protein 1“, ein TJ assoziiertes zytosolisches Protein (Hamazaki et al., 2002).
Nexus:	siehe Gap junction
Occludin:	Zuerst entdecktes Transmembran-Protein der TJ. (Furuse et al., 1993); vermutlich direkt am TJ Aufbau beteiligt; weist 4 Transmembrandomänen auf; physiologische Funktion noch unbekannt.
Oatp:	organic anion transporting polypeptid. Familie von Transportproteinen
PECAM:	Platelet-endothelial cell adhesions molecule (Voura et al., 2000)
P-face:	zytoplasmatische Seite der Lipid-Doppelmembran -> E-face
Pilt	Steht für “protein incorporated later into TJ’s” ein zytosolisches Protein (Kawabe et al., 2001).
P gp:	P-glycoprotein, zählt zu den Multidrug Transportern
REM:	Rasterelektronenmikroskop
SEM:	scanning electron microscope
SLC 2A:	solute carrier 2 A. Gruppe der Glucose Transporter wobei bei dieser Einteilung der Genort und nicht die Proteinstruktur wie bei der GLUT Einteilung zählt (Joost und Thorens, 2001)

Sminthopsis crassicaudata: Dickschwänzige Schmalfuß Beutelmaus

SGLT: NA(+) dependent glucose transporter, Natrium abhängige Glucosetransporter. Familie umfasst SGLT 1-6, Gen-Name: SLC 5A, transportieren teilweise auch Galactose und sind in Niere und im Verdauungstrakt zu finden (Wood und Trayhurn, 2003).

Tanycyten: (Leonhardt et al., 1966) Spezialisierte Ependymzellen, die durch sehr dichte TJ's das restliche Hirngewebe durch eine Schicht um die CVO abgrenzt und schützt.

TEER: Transendothelialer Widerstand; spiegelt den Widerstand wieder, der einem kleinen Ion, wie Na⁺ oder Cl⁻, durch ein Endothel entgegen wirkt. Dient zum direkten messen der Impermeabilität des Endothels, wobei an den BHS der TEER sich logarithmisch zur TJ Strangzahl verhält (Claude, 1978).

TGF: Transforming growth factor. Familie von Proteinfaktoren, die von transformierten Zellen sezerniert werden. TGF- α ist ein Faktor in der Initialisierungskette für endotheliales Wachstum. TGF- β ist mit hämatopoetischen Gewebe assoziiert und am Signalisierungspfad für die Bekämpfung der ersten Tumorzellen beteiligt.

TJ: Tight Junction; (Zonula occludentes) Struktur, die maßgeblich für die Impermeabilität des BHS-Kapillar-Endothels verantwortlich ist.

Vaskulogenese: Hierbei entstehen primäre Blutgefäße aus sich in situ differenzierenden Vorläuferzellen (Angioblasten); findet laut neueren Untersuchungen nicht nur in der Embryonalentwicklung statt (Ashara et al., 1997; Ashara et al., 1999; Shi et al., 1998) -> Angiogenese, Intussuszeption.

VEGF/ VPF: vascular endothelial growth factor; vascular permeability Factor (Darland et al., 2003); 45 kD großes homodimerisches, basisches Glycoprotein mit der Fähigkeit Heparin zu binden (Shinaruk et al., 2003); verschiedene Isoformen, bei Mensch 4 bei Maus 3 Stück; wichtigster endothelialer Wachstumsfaktor der Gehirngangiogenese, erhöht die Permeabilität von Gefäßen. Zur Familie werden insgesamt VEGF A, B, C, D, E und „placenta growth factor“ gezählt, wobei VEGF-A mit 121 Aminosäuren die größte Bedeutung für die Angiogenese zuerkannt wird (Shinkaruk et al., 2003).

ZNS: Zentralnervensystem

ZO (-1, -2, -3,): Zonula occludens zytosolische Proteine sind ebenfalls am Aufbau der TJ beteiligt ->zytosolische Proteine.

ZONAB: ZO-1-associated nucleic acid-binding protein, ein TJ assoziiertes zytosolisches Protein (Balda und Matter, 2000).

Zonula adherens: (Gürteldesmosom) biochemisch gesehen kein Desmosom sondern gebündelte Aktinfilamente, die gürtelförmig die Zelle umgeben. Meist im apikalen Bereich von Epithelzellen zu finden. Bildet im epithelialen Zellverband mit benachbarten Zonula adherens, im Lichtmikroskop erkennbare, durchgehende Bänder (Schlussleistennetz) (Baumhoer et al., 2000).

Zytsolische Proteine: ZO-1; (Stevenson et al., 1986); ZO-2,-3; (Gumbnier et al., 1991) binden direkt an das carboxyterminale Ende des Claudins, (Itoh et al., 1999b) und auch an das carboxyterminale Ende des Occludins, (Furuse et al., 1994; Fanning et al., 1998); ZO-1, ZO-2, sind direkt mit ihren Carboxy-terminalen Ketten mit dem Aktomyosin-Zytoskelett verbunden (Itoh et al., 1997; Fanning et al., 1998; Itoh et al., 1999 a, b); Cingulin ist mit ZO-1,-2,-3 und JAM assoziiert und mit dem Aktomyosin-Zytoskelett verbunden; vermittelt Kontakt zwischen TJ und dem Zytoskelett (Tsukita et al., 2001) weitere: 7H6 Protein, Symplektin.

VII. Zusammenfassung

Zielsetzung der vorliegenden Literaturstudie ist es, einen Überblick sowohl über die mikroskopische als auch die molekulare Struktur der Blut-Hirn- und der Blut-Liquor-Schranke zu geben.

Um den Stofftransport aus dem Blut in das Gehirn sowohl zu kontrollieren, als auch zu regulieren, benötigt der Wirbeltierorganismus speziell aufgebaute Barrieren. Dies sind, im Bereich des Gehirnes, zum einem die Blut-Hirn-Schranke, zum anderen die Blut-Liquor-Schranke.

Nachdem der Sitz und sogar die Existenz einer Blut-Hirn-Schranke lange Zeit sehr kontrovers diskutiert wurden, konnten die ersten transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen Ende der 60iger Jahre zeigen, dass ihr wesentliches morphologisches Korrelat die Kapillarendothelien des Gehirns sind. Eine wesentliche Rolle kommt hier den Tight junctions zu, deren hohe Dichte diesem Endothel die Funktion einer physikalischen Barriere verleiht. Diese physikalische Barriere ist aber nur der Grundstock für die sehr komplexen, dynamischen Systeme, um die es sich bei der BHS und BLS handelt, an denen eine Vielzahl von Zellen (Astrozyten, Perizyten, perivaskuläre Zellen, Neurone) und Mechanismen (Effluxtransport) beteiligt sind.

Um die pharmakologischen Vorgänge von Arzneimitteln und toxischen Stoffen besser Verstehen und um pathologische Wirkungsweisen besser nachvollziehen zu können, bedarf es struktureller wissenschaftlicher Untersuchungen, sowohl im mikroskopischen als auch im molekularbiologischen Bereich der BHS. Wobei sowohl in vivo, in vitro, als auch in silico Methoden eingesetzt werden müssen, da jedes System Stärken und Schwächen aufweist, die nur in ihrem Zusammenspiel relativiert werden können. Dies ist erforderlich, um den Herausforderungen, die sich heute und in Zukunft der Medizin stellen werden, wie zum Beispiel HIV-Behandlung, Tumorthherapie und Alterskrankheiten entgegenzutreten.

VIII. Summary

The structure of the Blood-Brain Barrier and the Blood-CSF-Barrier – a review –

The aim of this review was to give an overview about the structures of the blood-brain and the blood-csf-barrier.

In order to control the metabolic transport between blood and brain, as well as to regulate it, the organism of the vertebrates needs special equipped barriers. Those are, within the brain, the blood-brain-barrier (BBB) as well as the blood-liquor-barrier.

There was a long time of discussion about the position and even the existence of a blood-brain-barrier. Afterward the first transmission-electron-microscopic investigations gave the evidence of a blood-brain-barrier at the level of the brain capillary endothelial cells. The general structure seems very simple and either exists of capillary endothelial cells or epithelial cells, where, through apical laid structures, the so called tight-junctions, deny the unhindered metabolic exchange.

On second sight, one does discover that these barriers consist of very complex, dynamic systems, where a cell variety (astroglia, pericytes, perivascular microglia and neurones) and mechanisms (efflux transport) are involved.

In order to better comprehend the pharmacological occurrences in connection with medication, toxic substances and pathological effect, there is a need of structured, scientific researches, of the microscopic as well as the molecular field of the BBB. Therein it is necessary to use in vivo, in vitro as well as in silica methods, for every system shows its strengths and weaknesses, which can be only discovered and relativized by using more than one system. This kind of research is necessary to face challenges which will arise in Medicine today and the near future, such as the treatment of HIV, tumour therapy and geriatric diseases.

IX. Literaturverzeichnis

1. Abbruscato T.J. und Davis T. P., 1999,
Combination of Hypoxia/Aglycemia Compromises In Vitro Blood-Brain Barrier Integrity.
J Pharm Exp Ther 289(2):668–675.
2. Abe T., Kakyo M., Sakagami H., Tokui T., Nishio T., Tanemoto M., Nomura H., Hebert S.C., Matsuno S., Kondo H., Yawo H., 1998,
Molecular Characterization and Tissue Distribution of a New Organic Anion Transporter Subtype (oatp3) That Transports Thyroid Hormones and Taurocholate and Comparison with oatp2.
J Biol Chem Vol. 273, No. 35, Issue 28: 22395–22401.
3. Abott N.J. und Pichon Y., 1987,
The glial blood-brain barrier of crustacen and cephalopods: a review. J Physiol (Paris) 82:304-313.
4. Abott N.J., 2002,
Astrocyte–endothelial interactions and blood–brain barrier permeability.
J. Anat 200:629–638.
5. Abott N.J., Reichel A., Chishty, Read K.D., Taylor J.A., Begley D.J., 2001,
Measurement and Prediction of Blood-Brain Barrier Permeability.
abgedruckt in Blood-Brain Barrier Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2001, S. 27-44.
6. Agus D.B., Gambhir S.S., Pardridge W.M., Spielholz C., Baselga J., Vera J.C., Golde D.W., 1997,
Vitamin C Crosses the Blood–Brain Barrier in the Oxidized Form Through the Glucose Transporters.
J Clin Invest 100:2842–2848.
7. Alba C., Vidal L., Diaz F., Villena A., Pérez de Vargas I., 2004,
Ultrastructural and quantitative age-related changes in capillaries of the dorsal lateral geniculate nucleus.
Brain Res Bull 64:145–153.
8. Alho H., Leionen J.S., Erhola M., Lonrot K., Aejmelaeus R., 1998,
Assay of antioxidant capacity of human plasma and CSF in aging and disease.
Rest Neurol Neurosci 12:159–165.

9. Alisio A. und Mueckler M., 2004,
Relative Proximity and Orientation of Helices 4 and 8 of the GLUT1 Glucose
Transporter.
J Biol Chem 279:26540–26545.
10. Allt G. und Lawrenson J.G., 2001,
Pericytes: cell biology and pathology.
Cells Tissues Organs. 169 (1):1-11.
11. Alon T., Hemo I., Itin A., Pe'er J., Stone J., Keshet S., 1995,
Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed
retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity.
Nat Med 1:1024–1028.
12. Amasheh S., Meiri N., Gitter A.H., Schoneberg T., Mankertz J., Schulzke J.D.,
Fromm M., 2002,
Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of
epithelial cells.
J Cell Sci 115:4969-4976.
13. Amselgruber W.M., Schäfer M., Sinowatz F., 1999,
Angiogenesis in the bovine corpeus luteum: an immunocytochemical and
ultrastructural study.
Ant Histol Embryol 28:157-166.
14. Anderson J.M. und Van Itallie C.M., 1995,
Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular
permeability.
Am J Physiol 269:467-475.
15. Anderson J.M., 2001,
Molecular Structure of Tight Junctions and Their Role in Epithelial Transport.
News Physiol Sci 16:126-130.
16. Angeletti R.H., Novikoff P.M., Juvvadi S.R., Fritschy J.M., Meier P.J., Wolkoff
A.W., 1997,
The choroid plexus epithelium is the site of the organic anion transport protein
in the brain.
Proc Natl Acad Sci USA 94:283–286.
17. Antonelli-Orlidge A., Saunders K., Smith S., D'Amore P., 1989,
An activated form of transforming growth factor β is produced by co-cultures of
endothelial cells and pericytes.
Proc Natl Acad Sci USA 86:4544–4548.

18. Asahara T, Murohara T. Sullivan A., Silver M., van der Zee R., Li T. Witzenbichler B., Schatteman G., Isner J.M.; 1997, Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275:964-967.
19. Asahara T. Masuda H. , Takahashi T., Kalka C., Pastore C., Silver M., Keame M., Magner M., Isner J.M., 1999, Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularisation. *Circ Res* 85:221-228.
20. Aulak K. S., Liu J., Wu J., Hyatt S. L., Puppi M., Henning S. J., Hatzoglou M., 1996, Molecular Sites of Regulation of Expression of the Rat Cationic Amino Acid. *J. Biol. Chem.* 271:29799–29806.
21. Aurrand- Lions M.A., Duncan L., Du Pasquier L., Imhof B.A., 2000, Cloning of JAM- 2 and JAM -3: an emerging junctional adhesion molecular family? *Curr Top Microbiol Immunol* 251:91-98.
22. Balabanov R. und Dore-Duffy P., 1998, Role of the CNS Microvascular Pericyte in the Blood-Brain Barrier. *J Neurosci Res* 53:637–644.
23. Balda M.S., Anderson J.M., 1993, Two classes of tight junctions are revealed by ZO-1 isoforms. *Am J Physiol* 264:C918-924.
24. Balda M. S. und Matter K., 2000, Transmembrane proteins of tight junctions. *Semin Cell Dev Biol* 11:281-289.
25. Balda M. S., Gonzalez-Mariscal L., Matter K., Cereijido M., Anderson J., 1993, Assembly of the Tight Junction: The Role of Diacylglycerol *J Cell Biol* 123:293-302.
26. Ballabh P., Braun A., Nedergaard M., 2004, The blood–brain barrier: an overview Structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis* 16:1-13.
27. Banks W.A., Robinson S. M., Nath A., 2005, Permeability of the blood-brain barrier to HIV-1 Tat. *Exp Neuro* 193:218-227.

28. Bär T., 1980,
The vascular system of the cerebral cortex.
Adv. Anat. Embryol. Cell Biol. 59:1-62.
29. Barbul A., 1995,
The use of arginine in clinical practice In: Amino Acid Metabolism and Therapy
in Health and Nutritional Disease.
Edited by L. A. Cynober. Boca Raton, FL: CRC, 1995, S.361–372.
30. Bauer B., 2002,
In vitro Zellkulturmodelle der Blut-Hirn-Schranke zur Untersuchung der
Permeation und P-Glycoprotein-Interaktion von Arzneistoffen.
Diss Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg an der Naturwissenschaftlich-
Mathematischen Gesamtfakultät.
31. Baumhoer D., Steinbrück I., Götz W., 2000,
Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog1: Histologie mit Schemazeichnungen.
Urban & Fischer Verlag München Jena.
32. Baydoun A. R. und Mann G. E., 1994,
Selective targetting of nitric oxide synthase inhibitors to system y/ in activated
macrophages.
Biochem Biophys Res Commun 200:726–731.
33. Bazzoni G. und Dejana E., 2004,
Endothelial Cell-to-Cell junctions: Molecular Organization and Role in Vascular
Homeostasis.
Physiol Rev 84:869-901.
34. Bazzoni G., Martinez Estrada O.M., Orsenigo F., Cordenonsi M., Citi S., and
Dejana E., 2000,
Interaction of junctional adhesion molecule with the tight junction components
ZO-1, cingulin, and occludin.
J Biol Chem 275:20520–20526.
35. Benais-Pont G., Punn A., Flores-Maldonado C., Eckert J., Raposo G., Fleming
T.P., Cereijido M., Balda S.M., Matter, K., 2003,
Identification of a tight junction–associated guanine nucleotide exchange factor
that activates Rho and regulates paracellular permeability.
J Cell Biol 160:729–740.
36. Benjamin L.E., Hemo I., Keshet E., 1998,
A plasticity window for blood vessel remodelling is defined by pericyte coverage
of the preformed endothelial network and is regulated by PDGF-B and VEGF.
Development 125:1591-1598.

37. Berezowski V., Landry C., Dehouck M.-P., Cecchelli R., Fenart L., 2004,
Contribution of glial cells and pericytes to the mRNA profiles of Pglycoprotein
and multidrug resistance-associated proteins in an in vitro model of the blood–
brain barrier.
Brain Res 1018:1–9.
38. Betz A.L. und Goldstein G.W., 1986,
Specialized properties and solute transport in brain capillaries.
Annu Rev Physiol 48:241-250.
39. Biedl A. und Kraus R.;1898,
Über eine bisher unbekannte toxische Wirkung der Gallensäuren auf das
Zentralnervensystem.
Zentralblatt inn Med 19:11-85.
40. Bleasby K., Chauhan S., Brown, 2000,
Characterization of MPP⁺ secretion across human intestinal Caco-2 cell
monolayers: role of P-glycoprotein and a novel Na⁺-dependent organic cation
transport mechanism.
Br J Pharmacol 129:619-625.
41. Boado R.J., Li J.Y., Nagaya M., Zhang C., Pardridge W.M., 1999,
Selective expression of the large neutral amino acid transporter at the blood–
brain barrier.
PNAS 96:12079-12084.
42. Boado R.J., Li J.Y., Pardridge W.M., 2004,
Developmental Regulation of the Rabbit Blood-Brain Barrier LAT1 Large
Neutral Amino Acid Transporter mRNA and Protein.
Pediatr Res 55:557–560.
43. Böttcher I., 2004,
Untersuchung des Stellenwertes der Messung spezifischer Antikörper im Liquor
cerebrospinalis für die Diagnostik der ZNS-Manifestation der felinen Infektiösen
Peritonitis.
Dissertation LMU München der Tierärztlichen Fakultät.
44. Bradbury M.W., 1979,
The Concept of a Blood-Brain Barrier.
Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons Chichester. New York.
45. Bradbury M.W., 1993,
The blood-brain barrierogenesis.
Exp. Physiol. 78:453-472.

46. Bradbury M.W., 1995,
Developing views of the blood-brain barrier.
New concept of the blood-brain barrier S. 1-9, Edited by J Greenwood et al.,
Plenum Press, New York.
47. Breckner M., 2004,
Assoziation lymphozytärer Oberflächenmoleküle mit Blut-Hirn-
Schrankenstörungen.
Dissertation LMU München Medizin.
48. Breier G., Albrecht U., Sterrer S. und Risau W., 1992,
Expression of vascular endothelial growth-factor during embryonic angiogenesis
and endothelial cell differentiation.
Development 114:521-532.
49. Brightman M.W., 1968,
The intracerebral movement of proteins injected into blood and cerebrospinal
fluid of mice.
Prog Brain Res 29:19-40.
50. Brightman M.W., 1975,
Ultrastructural Characteristics of Adult Choroidal Plexus: Relation to the Blood-
Cerebrospinal Fluid Barrier to Proteins. In: The Choroid Plexus in Health and
Disease von Martin G. Nettsky, Samuray Shuanghoti and collaborators.
University Press of Virginia, Charlottesville S. 86-112.
51. Brightman M.W., 1989,
The Anatomic Basis of the Blood-Brain Barrier in Implications of the Blood-Brain
Barrier and Its Manipulation ed. Neuwelt E.A.
Plenum Publishing Corporation ,53-82.
52. Brightman M.W. und Reese T.S., 1969,
Junctions between intimately opposed cell membranes in the vertebrate brain.
J. Cell. Biol., 40:648-677.
53. Bruni J.E., 1974,
Scanning and transmission electron microscopy of the ependymal lining of the
third ventricle.
Can J Neurol Sci 1:59–73.
54. Bruni J.E., 1998,
Ependymal Development, Proliferation, and Functions.
Microsc Res Tech 41:2–13.
55. Bruni J.E., Clattenburg R.E, Montemurro D.G., 1977,
Ependymal tanocytes of the rabbit third ventricle: a scanning electron
microscopic study.
Brain Res 73:145-150.

56. Bruni J.E., Clattenburg R.E., Paterson J.A., 1983,
Ependymal cells of the rat fourth ventricle: Response to injury.
Scanning Electron Micros II:649–661.
57. Burniston J.G., Sainil A., Tan L.-B., Goldspink D.F., 2005,
Angiotensin II induces apoptosis *in vivo* in skeletal, as well as cardiac, muscle
of the rat.
Exp Physiol 90: 755–761.
58. Burri P.H., 1992,
Intussusceptive microvascular growth, a new mechanism of capillary network
formation.
EXS 62 .32-39.
59. Busch A.E., Karbach U., Miska D., Gorboulev V., Akhoundova A., Volk C., Arndt
P., Ulzheimer J.C., Donders M.S., Baumann C., Waldegger S., Lang F.,
Koepsell H., 1998,
Human neurons express the polyspecific cation transporter hOCT2, which
translocates monoamine neurotransmitters, amantadine, and memantine.
Mol Pharmacol 54:342–352.
60. Butt A.M., Jones H.C. und Abbott N.J., 1990,
Electrical resistance across the blood-brain barrier in anaesthetized rats: A
developmental study.
J Physiol 429: 47-62.
61. Campbell J.D., Koike K., Moreau C., Sansom M.S.P, Deeley R.G., Cole S.P.C.,
2004,
Molecular modeling correctly predicts the functional importance of Phe 594 in
transmembrane helix 11 of the multidrug resistance protein, MRP1 (ABCC1).
J Biol Chem 279:463–468.
62. Cancilla P.A., Zimmerman H.M., Becker N.H., 1966,
A histochemical and fine structure study of the developing rat choroid plexus.
Acta Neuropathol (Berl) 6:188-200.
63. Canfield A.E., Sutton A.B., Hoyland J.A., Schor A.M., 1996,
Association of thrombospondin-1 with osteogenic differentiation of retinal
pericytes in vitro. J Cell Sci 109: 343–53.
64. Carayannopoulos M.O., Chi M.M.Y., Cui Y., Pingsterhaus J.M., McKnight R.A.,
Mueckler M., Devaskar S.U., Moley K.H., 2000,
GLUT8 is a glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose
uptake in the blastocyst.
Proc Natl Acad Sci USA 13:7313-7318.

65. Case N.M., 1959,
Hemosiderin granules in the choroid plexus.
J Biophys Biochem Cytol 6:527-530.
66. Castello A., Cadefau J., Cusso R., Testar X., Hesketh J.E., Palacin M., Zorzano A., 1993,
GLUT-4 and GLUT-1 Glucose Transporter Expression Is Differentially Regulated by Contractile Activity in Skeletal Muscle
J Biol Chem 268:14998-1503.
67. Chang H.N., Garetto L.P., Katona T.R., Potter R.H., Roberts W.E., 1996,
Angiogenic induction and cell migration in an orthopaedically expanded maxillary suture in the rat.
Arch Oral Biol 41:985-994.
68. Chang H.N., Garetto L.P., Potter R.H., Katona T.R., Lee C.H., Roberts W.E., 1997,
Angiogenesis and osteogenesis in an orthopedically expanded suture.
Am J Orthod Dentofac Orthop, 111: 382–390.
69. Chang C., Ray A., Swaan P., 2005,
In silico strategies for modeling membrane transporter function.
DDT 10:663-772.
70. Citi S., Sabanay H., Jakes R., Geiger B., Kendrick-Jones J., 1988,
Cingulin, a new peripheral component of tight junctions.
Nature 333:272-276.
71. Claude P. und Goodenough D.A., 1973,
Fracture faces of zonulae occludentes from „tight“ and „leaky“ epithelia.
J Cell Biol 58:390-400.
72. Claude P., 1978,
Morphological factors influencing transepithelial permeability: a model for the resistance of the zonula occludens.
J Membr Biol 39:219-232.
73. Cohen C.J., Shieh J.T., Pickles R.J., Okegawa T., Hsieh J.T., Bergelson J.M., 2001,
The coxsackievirus and adenovirus receptor is a transmembrane component of the tight junction.
Proc Natl Acad Sci USA 98:15191-15196.
74. Cornford E.M. und Hyman S., 1999,
Blood–brain barrier permeability to small and large molecules.
Adv Drug Del Rev 36:145–163.

75. Cornford E.M. und Hyman S., 2005,
Localization of Brain Endothelial Luminal and Abluminal Transporters with
Immunogold Electron Microscopy.
NeuroRx 2:27–43.
76. Cornford E.M., Hyman S., Pardridge W. M., 1993,
An electron microscopic immunogold analysis of developmental up-regulation of
the blood-brain barrier GLUT1 glucose transporter.
J Cereb Blood Flow Metab 13:841–854.
77. Cornford E.M., Hyman S., Black K.L., Cornford M.E., Vinters H.V., Pardridge,
W. M., 1995,
High expression of the Glut1 glucose transporter in human brain
hemangioblastoma endothelium.
J Neuropathol Exp Neurol 54:842–851.
78. Crone C., 1965,
Facilitated transfer of glucose from blood into brain tissue.
J Physiol (Lond) 181:103-113.
79. Crone C. und Olesen S.-P., 1982,
Electrical resistance of brain microvascular endothelium.
Brain Res 241:49-55.
80. Darland D.C., Massingham L.J., Smith S.R, Piek E., Saint-Geniez M., D'Amore
P.A., 2003,
Pericyte production of cell-associated VEGF is differentiationdependent and is
associated with endothelial survival.
Develop Biol 264: 275–288.
81. Davson H. und Spaziani E., 1959,
The blood-brain barrier and the extracellular space of brain.
J Physiol (Lond) 149:135-143.
82. Davson H., Zloković B., Rakić L., Segal B.S., 1993,
History and Basic Concept Kapitel 1
In *An Introduction to the Blood- Brain Barrier*.
CRC Press, Inc S. 1-128.
83. Dean M. und Allikmets R., 2001,
Complete characterization of the human ABC gene family.
J Bioenerg Biomembr 33: 475-479.
84. Dejana E., Corada M., Lampugnani M.G., 1995,
Endothelial cell-to-cell junctions.
FASEB J 9: 910–918.

85. Dejana E., Bazzoni G., Lampugnani M.G., 1999,
Vascular endothelial(VE)-cadherin: only an intercellular glue?
Exp Cell Res 252:13–19.
86. Deli M.A., Ábrahám C.S., Kataoka Y., Niwa M., 2005,
Permeability Studies on In Vitro Blood–Brain Barrier Models: Physiology,
Pathology, and Pharmacology.
Cell Mol Neurobiol 25:59-127.
87. Dempsey E.W. und Wislocki, 1955,
An electron microscopic study of the blood-brain barrier in the rat, employing
silver nitrate as a vital stain.
J Biophys Biochem Cytol 1:245-256.
88. DeNofrio D., Hoock T.C., Herman I.M., 1989,
Functional Sorting of Actin Isoforms in Microvascular Pericytes.
J Cell Bio 109: 191-202.
89. Densson S.E. und Ferguson A.V., 2003,
Interleukin 1 modulates rat subfornical organ neurons as a result of activation of
non-selective cationic conductance.
J Physiol 550:113-122.
90. Dermitzel R. und Krause D., 1991,
Molecular anatomy of the blood- brain barrier as defined by
immunocytochemistry.
Int. Review Cytol. 127:57-109.
91. Dermitzel R., 1975,
Junctions in the central nervous system of the cat. V. The junctional complex of
the pia-arachnoid membrane.
Cell Tissue Res 164:309-329.
92. Deves R. und Boyd C.A., 1998,
Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure, and
function.
Physiol Rev 78, 487-545.
93. Deves R., Chavez P., Boyd C.A., 1992,
Identification of a new transport system (y+L) in human erythrocytes that
recognizes lysine and leucine with high affinity.
J Physiol 454:491-501.
94. Diaz-Flores L., Gutierrez R., Lopez-Alonso A., Gonzalez R., Varela H., 1992,
Pericytes as a supplementary source of osteoblasts in periosteal osteogenesis.
Clin Orthop Relat Res 275:280-285.

95. Diaz-Flores L., Gutierrez R., Varela H., Rancel N., Valladares F., 1991,
Microvascular pericytes: a review of their morphological and functional
characteristics.
Histol Histopathol 6:269-286.
96. Dick A.P.K., Harik S.I., Klip A., Walker D., 1984,
Identification and characterization of the glucose transporter of the blood-brain
barrier by cytochalasin B binding and immunological reactivity.
Proc Nati Acad Sci USA 81:7233-7237.
97. Djonov V., Schmid M., Tschanz S.A., Burri H.P., 2000;
Intusssuszeptive angiogenesis: its role in embryonic vascular network
formation.
Circ Res 86:286-292.
98. Doege H., Bocianski A., Joost H.G., Schürmann A., 2000a,
Activity and genomic organization of human glucose transporter 9 (GLUT9), a
novel member of the family of sugar transport facilitators predominantly
expressed in brain and leukocytes.
Biochem J 350:771–776.
99. Doege H., Schürmann A., Bahrenberg G., Brauers A., Joost H.G., 2000b,
Glucose transporter 8 (GLUT): a novel sugar transport facilitator with glucose
transport activity.
J Biol Chem 275:16275–16280.
100. Doege H., Bocianski A., Scheepers A., Axer H., Eckel J., Joost H.G.,
Schürmann A., 2001a,
Characterization of glucose transporter 10 (GLUT10), a novel heart and skeletal
muscle-specific sugar transport facilitator.
Diabetes 50, Suppl 2:A277–A278.
101. Doege H., Bocianski A., Scheepers A., Axer H., Eckel J., Joost H.G.,
Schürmann A., 2001b,
Characterization of the human glucose transporter GLUT11, a novel sugar
transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle. Biochem
J 359:443–449.
102. Doherty M.J., Ashton B.A., Walsh S., Beresford J.N., Grant M.E., Canfield A.E.,
1998,
Vascular Pericytes Express Osteogenic Potential In Vitro and In Vivo.
J Bone Miner Res 13:828-838.

103. Dohgu S., Yamauchi A., Takata F., Naito M., Tsuruo T, Higuchi S., Sawada Y., Kataoka Y., 2004,
Transforming growth factor- β 1 upregulates the tight junction and P-glycoprotein of brain microvascular endothelial cells.
Cell Mol Neurobiol 24:491–497.
104. Dohgu S., Takata F., Yamauchi A., Nakagawa S., Egawa T., Naito M., Tsuruo T., Sawada Y., Niwa M., Kataoka Y, 2005,
Brain pericytes contribute to the induction and up-regulation of blood–brain barrier functions through transforming growth factor- β production.
Brain Res 1038: 208–215.
105. Dohrman G.J., 1970 a,
The choroid plexus: a historical review.
Brain Res 18:197-218.
106. Dohrman G.J., 1970b,
Dark and light epithelial cells in the choroid plexus of mammals.
J Ultrastruct Res 32:268-73.
107. Dohrman G.J. und Bucy P.C., 1970,
Human choroid plexus: a light and electron microscopic study.
J Neurosurg 33:506-516.
108. Dohrman G.J. und Herdson P.B., 1970,
The choroid plexus of the mouse: a macroscopic, microscopic and fine structural study.
Z Mikrosk Anat Forsch 82:508-22.
109. Drenckhahn D., 2004,
Mikrozirkulation Kap. 9.4.2 in Benninghoff und Drenckhahn Anatomie: Makroskopische Anatomie, Histologie , Embryologie, Zellbiologie Band 2., 16 Auflage S. 89-91 Urban & Fischer Verlag.
110. Drewe J. und Krähenbühl S., 2000,
Klinische Pharmakologie: Proteine für den Transport von Arzneistoffen.
Schweiz Med Wochenschr 130: 727-731.
111. Drewes L. R., Gerhart D.Z., Leino R.L., Enerson E.E., 2001,
Expression and Modulation of Blood-brain Monocarboxylate Transporters. In Blood-Brain Barrier .
Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, 2001. S. 9-17.
112. Düring M., Dermitzel R., Drenckhahn, 2004,
Hirnhäute, Ventrikelauskleidung , Liquor cerebrospinalis.
Benninghoff Anatomie Band 2, 16. Aufl., S. 266-278. Urban & Fischer Verlag.

113. Duvernoy H., Delon S., Vannson J.L., 1983,
The vascularization of the human cerebellar cortex.
Brain Res Bull 11:419-480.
114. Dziegielewska K.M., Ek J., Habgood M.D., Saunders N.R., 2001,
Development of the Choroid Plexus.
Microsc Res Tech 52:5–20.
115. Ebnet K., Aurrand-Lions M., Kuhn A., Kiefer F., Butz S., Zander K., Meyer zu
Brickwedde M.K., Suzuki A., Imhof B.A., Vestweber D., 2003,
The junctional adhesion molecule (JAM) family members JAM-2 and JAM-3 a
possible role for JAMs in endothelial cell polarity. J Cell Sci 116:3879-3891.
116. Ehrlich P., 1885,
Das Sauerstoff-Bedürfnis des Organismus eine farbenanalytische Studie.
ursprünglich Hirschwald, Berlin 1885 aus Paul Ehrlich gesammelte Werke Band
I, S. 364-432 Springer Verlag Berlin Heidelberg 1956.
117. Ehrlich P., 1886,
Über die Methylenblaureaction der lebenden Nervensubstanz.
Nach einem am 21. Dez. 1885 gehaltenen Vortrag beim „Verein für innere
Medicin“, der 1886 in der „Dtsch. Med. Wschr., cf. Bibl. 48“ abgedruckt wurde.
aus Paul Ehrlich gesammelte Werke Band I S. 500-508 Springer Verlag Berlin
Heidelberg 1956.
118. Ehrlich P., 1902,
Über die Beziehung chemischer Constitution, Vertheilung und
pharmakologischer Wirkung.
Gesammelte Werke zur Immunitätsforschung, Berlin. (aus Paul Ehrlich
gesammelte Werke Band I S.570-595 Springer Verlag Berlin Heidelberg 1956;
ursprünglich aus Leyden-Festschr., Berlin Hirschwald, 1902).
119. Elimrani I., Lahjouji K., Seidman E., Roy M.J., Mitchell G.A., Qureshi I., 2003,
Expression and localization of organic cation/carnitine transporter OCTN2 in
Caco-2 cells.
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 284:G863-G871.
120. Engelhardt B., 2003,
Developement of the blood-brain barrier.
Cell Tissue Res 314:119-129.
121. Engelhardt B. und Risau W., 1995,
Developement of the blood-brain barrier.
New concept of the blood-brain barrier S.11- 31, Edited by J Greenwood et al.,
Plenum Press, New York.

122. Engelhardt B., Wolburg –Buchholz K., Wolburg H., 2001,
Involvement of the Choroid Plexus in Central Nervous System Inflammation.
Microsc Res Tech 52:112–129.
123. Fanning A.S., Jamson B.J., Jesaitas L.A., Anderson J.M., 1998,
The tight junction protein ZO-1 establishes a link between the transmembrane
protein occludin and the actincytoskeleton.
J Biol Chem 273:29745-29753.
124. Farquahar M.G. und Palade G.E., 1963,
Junctional complexes in various epithelia.
J Cell Biol 17:375-412.
125. Farrell C.L., Pardridge W.M., 1991,
Blood–brain barrier glucose transporter is asymmetrically distributed on brain
capillary endothelial luminal and abluminal membranes: an electron
microscopic immunogold study.
Proc Natl Acad Sci USA 88:5779–5783.
126. Farrell C.R., Stewart P.A., Farrell C.L, Del Maestro R.F., 1987,
Pericytes in human cerebral microvasculature.
Anat Rec 218:466–469.
127. Fenstermacher J.D., Tavarekere N., Davis K.R., 2001,
Overview of the Structure and Function of the Blood-Brain Barrier in vivo.
In Blood-Brain Barrier Drug Delivery and Brain Pathology von Kobiler, Lustig
und Shapira.
Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. S. 2-7.
128. Ferrara N und Hanzel W.J., 1989,
Pituitary Follicular cells secrete a novel heparin- binding growth -factor specific
for vascular endothelial -cells.
Biochem Biophys Res Comm 161:851-858.
129. Fletcher N.F.; Brayden D.J., Brankin B., Worrall S., Callanan J.J., 2005,
Growth and characterisation of a cell culture model of the feline blood-brain
barrier.
Vet Immunol Immunopathol. 2005 Sep 20; doi:10.1016/j. vetimn. 2005.08.025.
130. Fogh J., Fogh J. M., Orfeo T., 1977,
One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing
tumors in nude mice.
J Natl Cancer Inst 59:221-226.
131. Folkman J. 1994,
Angiogenesis in breast cancer.
J Clin Oncol 12:441-443.

132. Folkman J. und Klagsbrun M., 1987,
Angiogenic factors.
Science 235:442-447.
133. Forbes M.S., Rennels M.L., Nelson E., 1977,
Ultrastructure of pericytes in mouse heart.
Am J Anat 149:47-70.
134. Frank R.N., Duta S., Mancini M.A., 1987,
Pericyte coverage is greater in the retinal than in the cerebral capillaries of the rat.
Invest Ophthalmol Visual Sci 28:1089-1091.
135. Fricke B., Andres K.H., von Düring M., 2001,
Nerve Fibers Innervating the Cranial and Spinal Meninges: Morphology of Nerve Fiber Terminals and Their Structural Integration
Microsc Res Tech 53:96-105.
136. Friedrich A., 2000,
Studies of expression and characterization of various transport systems at RBE 4 cells, an in vitro model of the blood-brain barrier.
Dissertation an der Technische Universität Dresden.
137. Fukumoto H., Seino S., Imura H., Seino Y., Eddy R.L., Fukushima Y., Byers M.G., Shows T.B., Bell G.I., 1988,
Sequence, tissue distribution, and chromosomal localization of mRNA encoding a human glucose transporter-like protein.
Proc Natl Acad Sci USA 85:5435-5438.
138. Fukumoto H., Kayanao T., Buse J.B., Edwards Y., Pilch P.F., Bell G.I., Seino S., 1989,
Cloning and characterization of the major insulin-responsive glucose transporter expressed in human skeletal muscle and other insulin-responsive tissues.
J Biol Chem 264:7776-7779.
139. Furuse M., Hirase T., Itoh M., Nagafuchi A., Yonemura S., Tsukita S., 1993,
Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions.
J Cell Biol 123: 1777-88.
140. Furuse M., Itoh M., Nagafuchi A., Yonemura S., Tsukita S., 1994,
Direct association of occludin with ZO-1 and its possible involvement in the localization of occludin at tight junctions.
J Cell Biol 127:1617-1626.
141. Furuse M., Fujita K., Hiiragi T., Fujimoto K., Tsukita S., 1998a,
Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin.
J Cell Biol 141:1539-1550.

142. Furuse M., Sasaki H., Fujimoto K., Tsukita S., 1998b,
A single gene product, claudin –1 or –2, reconstitutes tight junction strands and recruits occludin in fibroblasts.
J Cell Biol 143:391-401.
143. Furuse M., Hata M., Furuse K., Yoshida Y., Haratake A., Sugitani Y., Noda T., Kubo A., Tsukita S., 2002,
Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1–deficient mice.
J Cell Biol 156:1099-1111.
144. Ganong W.F., 2000,
Circumventricular organs definition and role in the regulation of endocrine and autonomic function.
Clin Exp Pharmacol Physiol 27:422–427.
145. Gao B., Stieger B., Noe B., Fritschy J.M., Meier P.J., 1999,
Localization of the organic anion transporting polypeptide 2 (Oatp2) in capillary endothelium and choroid plexus epithelium of rat brain.
J Histochem Cytochem 47:1255–1264.
146. Gao B., Hagenbuch B., Kullak-Ublick G.A., Benke D., Aguzzi A., Meier P.F., 2000,
Organic anion-transporting polypeptides mediate transport of opioid peptides across blood-brain barrier.
J Pharmacol Exp Ther 294:73–79.
147. Gherzi-Egea J.F., Finnegan W., Chen J.L., Fenstermacher J.D., 1996,
Rapid distribution of intraventricularly administered sucrose into cerebrospinal fluid cisterns via subarachnoid velae in rat.
Neuroscience, 75:1271-88.
148. Gherzi-Egea J.F., Strazielle N., 2001,
Brain drug delivery, drug metabolism and multidrug resistance at the choroid plexus.
Microsc Res Tech 52:83-88.
149. Gherzi-Egea J.F., Strazielle N., Belin M.F., 2001,
Neuroprotective and Detoxifying Mechanisms at the Blood-Brain Interfaces.
In Blood-Brain Barrier Drug Delivery and Brain Pathology Kluwer Academic/plenum Publishers, New York, 2001. S.19-25
150. Gillies M.C. und Su T., 1993,
High glucose inhibits retinal capillary pericyte contractility in vitro.
Invest Ophthalmol Vis 34:3396-401.

151. Gjedde A., 1992,
Blood-Brain Glucose Transfer.
In Physiology and Pharmacology of the Blood-Brain Barrier. Edited by M. Bradbury. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1992, Chapter 4:66-115.
152. Goldman E.E., 1909,
Die äussere und innere Sekretion des gesunden und kranken Organismus im Lichte der „vitalen Färbung“,
Beitr Klin Chirug 64:192.
153. Goldman E.E., 1913,
Vitalfärbung am Zentralnervensystem.
Abh Preuss Akd Wiss, Phys-Math Kl.I:1 S. 1-13.
154. Goldstein G. W. und Betz A.I., 1986,
The blood-brain barrier.
Scient. American. 255:70-79.
155. Gonul E., Duz B., Kahraman S., Kayali H., Kubar A., Timurkaynak E., 2002,
Early Pericyte Response to Brain Hypoxia in Cats:
An Ultrastructural Study Micro Res 64, 116–119.
156. Gorboulev V., Ulzheimer J.C., Akhoundova A., Ulzheimer-Teuber I., Karbach U., Quester S., Baumann C., Lang F., Busch A.E., Koepsell H., 1997,
Cloning and characterization of two human polyspecific organic cation transporters.
DNA Cell Biol. 16, 871-881.
157. Gotow T. und Hashimoto P. H., 1984,
Plasma-membrane organization of astrocytes in elasmobranchs with special reference to the brain barrier system.
J Neurocytol 13:727–742.
158. Gould S.J., Howard S., Papadaki L., 1990,
The development of ependyma in the human fetal brain: an immunohistological and electron microscopic study.
Brain Res Dev Brain Res 55:255-267.
159. Gray H., 1995,
Grays Anatomy the anatomical basis of medicine and surgery. 38th ed Williams P.L., Bannister L. H., Berry M. M., Collins P., Dyson M., Dussek J. E. Ferguson M. W. J. (eds.). Hrsg. Williams P.L., Gray H. Churchill Livingstone Verlag New York u.a.
160. Grebenkamper K. und Galla H.J., 1994,
Translational diffusion and measurement of a fluorescent phospholipid between MDCK-I cells support the lipid model of the tight junctions.
Chem Phys Lipids 71:133-43.

161. Greig N.H., 1992,
Drug Entry Into the Brain and Its Pharmacologic Manipulation.
In Physiology and Pharmacology of the Blood-Brain Barrier. Edited by M. Bradbury. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1992, Chapter 20: 487-516.
162. Greig N.H., Yu Q.-S, Utsuki T., Holloway H.W., Zhu X., Perry T., Lee B.H., Ingram D.K., Lahiri D. K., 2001,
Optimizing drugs for brain action.
In Blood-Brain Barrier Drug Delivery and Brain Pathology von Kobilier, Lustig und Shapira Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2001. S. 281-309.
163. Gründemann D., Gorboulev V., Gabaryan S., Veyhl M., Koepsell H., 1994,
Drug excretion mediated by a new prototype of polyspecific transporter.
Nature 372:549–52.
164. Gründemann D., Schechinger B., Rappold G.A., Schömig E., 1998,
Molecular identification of the corticosterone-sensitive extraneuronal catecholamine transporter.
Nat Neurosci 1:349-351.
165. Gumbnier B., Lowenkopf T., Apatira D., 1991,
Identification of a 160-kDa polypeptide that binds to the tight junction protein ZO-1.
Proc Natl Acad Sci USA 88:3460-4.
166. Gurwitch A., 1923,
Die Capillarpericyten der Fische, Reptilien und Vögel.
In der Abhandlung Der feinere Bau der Blutcapillaren von K.W. Zimmerman in Z Anat Entwicklungsgesch 68: 70-77.
167. Hamazaki Y., Itoh M., Sasaki H., Furuse M., Tsukita S., 2002,
Multi-PDZ Domain Protein 1 (MUPP1) Is Concentrated at Tight Junctions through its Possible Interaction with Claudin-1 and Junctional Adhesion Molecule
J Biol Chem 277:455–462.
168. Hansen P.A., Wang W., Adkins Marshalli B., Holloszy J. O., Mueckler M., 1998,
Dissociation of GLUT4 Translocation and Insulin-stimulated Glucose Transport in Transgenic Mice Overexpressing GLUT1 in Skeletal Muscle.
J Biol Chem 273:18173–18179.
169. Hargreaves K.M. und Padridges W.M., 1988,
Neutral amino acid transport at the human blood-brain barrier.
J Biol Chem 263:19392-19397.

170. Haruta T., Morris A. J., Rose D.W., Nelson J.G., Mueckler M., Olefsky J.M., 1995,
Insulin-stimulated GLUT4 Translocation Is Mediated by a Divergent Intracellular
Signaling Pathway.
J Biol Chem 270: 27991–27994.
171. Haselbach M., Wegener J., Decker S., Engelbertz C., Galla H-J, 2001,
Porcine *Choroid Plexus* Epithelial Cells in Culture: Regulation of Barrier
Properties and Transport Processes.
Microsc Res Tech 52:137–152.
172. Haseloff R.F., Blasig I.E., Bauer H.-C., Bauer H., 2005,
In Search of the Astrocytic Factor(s) Modulating Blood–Brain Barrier Functions
in Brain Capillary Endothelial Cells In Vitro.
Cell Mol Neurobiol 25:26-39.
173. Haskins J., Gu L., Wittchen E.S., Hibbard J., Stevenson B.R., 1998,
ZO-3 a novel member of the MAGUK protein family found in tight junctions,
interacts with ZO-1 and occludin.
J Cell Biol 141: 199-208.
174. Hausdorff S.F., Bennett A.M., Neel B.G., Birnbaum M.J., 1995;
Different signaling Roles of SHPTP2 in Insulin-induced GLUT1 Expression and
GLUT4 Translocation.
J Biol Chem 270:12965-12968.
175. Hellström M., Gerhardt H., Kalén M., Li X., Eriksson U., Wolburg H., Betsholtz
C., 2001,
Lack of Pericytes Leads to Endothelial Hyperplasia and Abnormal Vascular
Morphogenesis.
J Cell Biol 153:543–553.
176. Herman I.M. und D'Amore P.A., 1985,
Microvascular Pericytes Contain Muscle and Nonmuscle Actins.
J Cell Biol 101: 43-52.
177. Hirase T., Kawashima S., Wong E.Y.M., Ueyama T., Rikitake Y., Tsukita S.,
Yokoyama M., Staddon J.M., 2001,
Regulation of tight junction permeability and occludin phosphorylation by Rho-
p160ROCK-dependent and -independent mechanisms.
J Biol Chem 276:10423-10431.
178. Hirase T., Staddon J.M., Saitou M., Ando – Akatsuka Y., Itoh M., Furuse M.,
Fujimoto K., Rubin L.L., 1997,
Occludin as a possible determinant of tight junction permeability in endothelial
cells. J Cell Sci 110:1603-1613.

179. Hori S., Ohtsuki S., Hosoya K., Nakashima E., Terasaki T., 2004,
A pericyte-derived angiopoietin-1 multimeric complex induces occluding gene expression in brain capillary endothelial cells through Tie-2 activation in vitro. *J Neurochem* 89:503–13.
180. Hirschi K.K., D'Amore P.A., 1996,
Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc Res* 32: 687–98.
181. Holash J.A., Noden D.M., Stewart P.A., 1993, Re-evaluating the role of astrocytes in blood-brain barrier induction. *Dev Dyn* 197:14-25.
182. Hori S., Ohtsuki S., Hosoya K., Nakashima E., Terasaki T., 2004,
A pericyte -derived angiopoietin-1 multimeric complex induces occluding gene expression in brain capillary endothelial cells through Tie-2 activation in vitro. *J Neurochem* 89:503-513.
183. Horn F., Lindenmeier G., Moc I., Grillhösl C., Berghold S., Schneider N., Münster B., 2003,
Biochemie des Menschen.
Das Lehrbuch für das Medizinstudium. 2. korrigierte Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart ,New York.
184. Huber D., Balda M.S., Matter K., 2000,
Occludin modulates transepithelial migration of neutrophils. *J Biol Chem* 275:5773-5778.
185. Huber J.D., Egleton R.D., Davis T.P., 2001,
Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood–brain barrier. *Trds Neurosci* 24:719-25.
186. Hyde R., Taylor P.M., Hundal H.S., Peyrollier K., Christie G.R., 2003,
Amino acid transporters: roles in amino acid sensing and signaling in animal cells. *Biochem J* 373:1–18.
187. Ibberson M., Uldry M., Thorens B., 2000,
GLUTX1, a novel mammalian glucose transporter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues. *J Biol Chem* 275: 4607–4612.
188. Ide N., Hata Y., Nishioka H., Hirao K., Yao I., Deguchi M., Mizoguchi A., Nishimori H., Tokino T., Nakamura Y., Takai Y. 1999,
Localization of membrane-associated guanylate kinase (MAGI)-1/BAI-associated protein (BAP) 1 at tight junctions of epithelial cells. *Oncogene* 18:7810–7815.

189. Ingber D.E., Madri J.A., Folkman J., 1987,
Endothelial growth factors and extracellular matrix regulate DNA synthesis through modulation of cell and nuclear expansion.
In Vitro Cell Dev Biol 23:387-394.
190. Itoh M., Morita K., Tsukita S., 1999a,
Characterization of ZO- 2 as a MAGUK family member associated with tight as well as adherens junctions with a binding affinity to occludin and alpha catenin.
J Biol Chem 274:5981-5986.
191. Itoh M., Furuse M., Morita K., Kubota K., Saitou M., Tsukita S., 1999b,
Direct binding of three tight junction- associated MAGUKs, ZO – 1, ZO – 2, and ZO – 3, with the COOH termini of claudins.
J Cell Biol 147:1351-1363.
192. Itoh M., Nagafuchi A., Moroi S., Tsukita S., 1997,
Involvement of ZO- 1 in cadherin based cell adhesion through its direct binding to alpha catenin and actin filaments.
J Cell Biol 138:181–192.
193. Izumi Y., Hirose T., Tamai Y., Hirai S., Nagashima Y., Fujimoto T., Tabuse Y., Kemphues K., Ohno S., 1998,
An Atypical PKC Directly Associates and Colocalizes at the Epithelial Tight Junction with ASIP, a Mammalian Homologue of Caenorhabditis elegans Polarity Protein PAR-3.
J Cell Biol 143:95–106.
194. Jägerhuber R., 2003,
Untersuchungen über die Interaktion von Meningokokken mit Zellen der Blut-Hirn-Schranke.
Dissertation an der LMU München, Tierärztliche Fakultät.
195. Jain-Vakkalagadda B., Dey S., Pal D., Mitra A.K., 2003,
Identification and Functional Characterization of a Na(+)-Independent Large Neutral Amino Acid Transporter, LAT1, in Human and Rabbit Cornea.
Invest Ophthalmol Vis Sci 44:2919–2927
196. Johnson A.K. und Gross P.M., 1993,
Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways.
FASEB J 7:678-86.
197. Johnson-Leger C., Aurrand-Lions M., Imhof B.A., 2000,
The parting of the endothelium: miracle, or simply a junctional affair?
J Cell Sci 113: 921–933.

198. Joo F., 1995,
Endothelial cells of the brain and other organ systems: Some similarities and differences.
Progress in Neurobiol, 48:255-273.
199. Joost H.G. und Thorens B., 2001,
The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators—nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members.
Molec Membr Biol 18:247–256.
200. Joost H.G., Doege H., Bocianski A., Schürmann A., 2001,
Erratum: nomenclature of the GLUT family of sugar transport facilitators.
GLUT6, GLUT9, GLUT10, and GLUT11.
Biochem J 358:791–792.
201. Joost H.G., Bell G.I., Best J.D., Birnbaum M.J., Charron M.J., Chen Y. T., Doege H., James D.E., Lodish H.F., Moley K.H., Moley J.F., Mueckler M., Rogers S., Schürmann A., Seino S., Thorens B., 2002,
Nomenclature of the GLUT/SLC2A family.
Am J Physiol Endocrinol Metab 282:E974–E976.
202. Joyce N.C., Haire M.F, Palade G.E., 1985a,
Contractile proteins in pericytes. I. Immunoperoxidase localization of tropomyosin.
J Cell Biol 100: 1379–1386.
203. Joyce N.C., Haire M.F., Palade G.E., 1985b,
Contractile proteins in pericytes. II. Immunocytochemical evidence for the presence of two isomyosins in graded concentrations.
J Cell Biol 100: 1387–95.
204. Junqueira L.C.U., Carneiro J., Kelly R.O., 2002,
Lehrbuch: Histologie.
Springer Verlag Berlin Heidelberg,S. 452-454.
205. Kachar B.und Reese T.S., 1982,
Evidence for the lipidic nature of tight junction strands.
Nature 296:464-466.
206. Kamouchi M., Kitazono T., Ago T., Wakisaka M.,Ooboshi H., Ibayashi S., Iida M., 2004,
Calcium influx pathways in rat CNS pericytes.
Mol Brain Res 126: 114–120.
207. Kanai Y., Segawa H., Miyamoto K., Uchino H., Takeda E., Endou H., 1998,
Expression Cloning and Characterization of a Transporter for Large Neutral Amino Acids Activated by the Heavy Chain of 4F2 Antigen (CD98)
J Biol Chem 273:23629–23632.

208. Kawabe H., Nakanishi H., Asada M., Fukuhara A., Morimoto K., Takeuchi M, Takai Y., 2001,
Pilt, a Novel Peripheral Membrane Protein at Tight Junctions in epithelial Cells.
J Biol Chem 276:48350–48355.
209. Kawamura H., Oku H., Li Q., Sakagami K., Puro D.G., 2002,
Endothelin-Induced Changes in the Physiology of Retinal Pericytes.
Invest Ophthalmol Vis Sci 43:882–888.
210. Kayano T., Burant C.F., Fukumoto H., Gould G.W., Fan Y., Eddy R.L., Byers M.G., Seino S., Bell G.I., 1990,
Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6).
J Biol Chem 265:13267–13282.
211. Kayano T., Fukumoto H., Eddy R.L., Fan Y.S., Byers M.G., Shows T.B., and Bell G.I., 1988,
Evidence for a family of human glucose transporter-like proteins. Sequence and gene localization of a protein expressed in fetal skeletal muscle and other tissues.
J Biol Chem 263:15245–15248.
212. Keck P.J., Hauser S.D., Krivi G., Sanzo K., Warren T., Feder J. Comolly D.T., 1989,
Vascular-permeability factor, an endothelial-cell mitogen related to PDGF.
Science 246: 1309-1312.
213. Kelley C, D~Amore P., Hechtman H.B., Shepro D., 1987,
Microvascular Pericyte Contractility In Vitro: Comparison with Other Cells of the Vascular Wall.
J Cell Biol 104: 483-490.
214. Keon B.H., Schafer S., Kuhn C., Grund C., Franke W.W., 1996,
Symplekin, a novel type of tight junction plaque protein.
J Cell Biol 134:1003–1018.
215. Kilberg M.S., Handlogten M.E., Christensen H.N., 1980,
Characteristics of an Amino Acid Transport System in Rat Liver for Glutamine, Asparagine, Histidine, and Closely Related Analogs.
J Biol Chem 255:4011-4019.
216. Kim J.W., Closs E.I., Albritton L.M., Cunning-Ham J.M., 1991,
Transport of cationic amino acids by the mouse ecotropic retrovirus receptor.
Nature 352:725-728.

217. Kirsch B., Leonhardh H., Buchheim W., 1978,
The functional and structural border between the CSF- and blood-milieu in the circumventricular organs (organum vasculosum laminae terminalis, subfornical organ, area postrema) of the rat.
Cell Tissue Res 195: 485-497.
218. Knudsen K.A., Soler A.P., Johnson K.R., Wheelock M.J., 1995,
Interaction of alpha-actinin with the cadherin/catenin cell-cell adhesion complex via alpha-catenin.
J Cell Biol 130:67–77.
219. Koepsell H., Schmitt B.M., Gorboulev V., 2003,
Organic cation transporters.
Rev Physiol Biochem Pharmacol 150:36-90.
220. Koretsky A. P., 2004,
New Developments in Magnetic Resonance Imaging of the Brain.
NeuroRx 1:155-164.
221. Korn J., Christ B., Kurz H., 2002,
Neuroectodermal Origin of Brain Pericytes and Vascular Smooth Muscle Cells.
J Comp Neurol 442:78–88.
222. Korr H. ,1980,
Proliferation of different cell types in the brain. Adv Anat Embryol Cell Biol 61:1–69.
223. Krause D., Kunz J., Dermietzel R., 1993,
Cerebral pericytes – a second line of defense in controlling blood-brain barrier peptide metabolism.
Adv Exp Med Biol 331:149-152.
224. Krogh A., 1946,
The active and passive exchanges of inorganic ions through the surfaces of living cells and through living membranes generally.
Proc Roy Soc B 133:140.
225. Kruse T, Reiber H. und Neuhoff V., 1985,
Amino acid transport across the human blood-CSF barrier.
J Neurolog Sci 70:129–138.
226. Kuban K.C. und Gilles F.H., 1985,
Human telencephalic angiogenesis.
Ann Neurol 17:539-458.

227. Kugler P., 2004,
Grundzüge der Entwicklung. In Benninghoff und Drenckhahn: Anatomie
Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie Band 2, 16.
Auflage Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag S. 248-260.
228. Kusuhara H. und Sugiyama Y., 2001a,
Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-
cerebrospinal fluid barrier (Part 1).
Drug Discov Today 6:150-156.
229. Kusuhara H. und Sugiyama Y., 2001b,
Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-
cerebrospinal fluid barrier (Part 2).
Drug Discov Today 6:206-212.
230. Lacaz-Vieira F., Jaeger M.M.M., Farshori P., Kachar B., 1999,
Small synthetic peptides homologous to segments of the first loop of occludin
impair tight junction resealing
J Membr Biol 168:289-297.
231. Landis D.M.D und Reese T.S., 1981,
Astrocyte Membrane Structure: Changes after Circulatory Arrest.
J Cell Biol 88:660-663.
232. Laura R.P., Ross S., Koeppen H., Lasky L.A., 2002,
MAGI-1: a widely expressed, alternatively spliced tight junction protein.
Exp Cell Res 275:155–170.
233. Lee E.J., Hung Y.C., Lee M.Y., 1999,
Early alterations in cerebral hemodynamics, brain metabolism, and blood-brain
barrier permeability in experimental intracerebral hemorrhage.
J Neurosurg 91:1013-1019.
234. Lee G., Dallas S., Hong M., Bendayan R., 2001,
Drug Transporters in the Central Nervous System: Brain Barriers and Brain
Parenchyma Considerations.
Pharmacol Rev 53:569-591.
235. Lee J.Y., Urbatsch I.L., Senior A.E., Wilkens S., 2002,
Projection structure of P-glycoprotein by electron microscopy. Evidence for a
closed conformation of the nucleotide binding domains.
J Biol Chem 277:40125–40131.
236. Lefauconnier J.-M., 1992,
Transport of Amino Acids.
In Physiology and Pharmacology of the Blood-Brain Barrier. Edited by M.
Bradbury. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1992; Chap.5:117-50.

237. Leino R.L., Gerhart D.Z., Drewes L.R., 1999,
Monocarboxylate transporter MCT1) abundance in brains of suckling and adult rats: a quantitative electron microscopic immunogold study.
Brain Res Dev Brain Res 113: 47-54.
238. Leonhardt, 1966,
Über ependymale Tanyzyten des III. Ventrikels beim Kaninchen in elektronenmikroskopischer Betrachtung.
Z Zellforsch mikrosk anat 74:1-11.
239. Leung D.W., Cachianes G., Kuang W.J., Goeddel D.V. und Ferrana N., 1989,
Vascular endothelial -growth factor is a secret angiogenic mitogen.
Science 246: 1306-1309.
240. Levin V.A., 1980,
Relationship of octanol/water partition coefficient and molecular weight to rat brain capillary permeability.
J Med Chem 23:682-684.
241. Lewandowsky M., 1900,
Zur Lehre der Cerebrospinal Flüssigkeit.
Z. Klin. Med., 40:480-494.
242. Lippoldt A., Jansson A., Kniesel U., Andbjør B., Andersson A., Wolburg H., Fuxe K., Haller H., 2000,
Phorbol ester induced changes in tight and adherens junctions in the choroid plexus epithelium and in the ependyma.
Brain Research 854:197–206.
243. Lohmann C., 2003,
Die Blut-Hirn Schranke in vitro.
Dissertation Institut für Biochemie, Universität Münster.
244. Lohmann C., Huwel S., Galla H.J., 2002,
Predicting blood-brain barrier permeability of drugs: evaluation of different in vitro assays.
J Drug Target 10: 263-276.
245. Lonrot K., Metsä-Ketela T., Molnar G., Ahonen J.P., Latvala M., Peltola J., Pietela T., Alho H., 1996,
The effect of ascorbate and ubiquinone supplementation on plasma and CSF total antioxidant capacity.
Free Radic Biol Med 21:211-217.
246. Madara J.L., 1991,
Anatomy of the Tight Junction: Vertebrates.
In Tight junctions edited by M. Cereijido; CRC Press, Inc.1992, S. 15-22.

247. Mankertz J., Waller J.S., Hillenbrand B., Tavalali S., Florian P. Schoneberg T., Fromm M, Schulzke J.D., 2002,
Gene expression if the tight junction protein occludin includes diffential splicing and alternative promoter usage.
Biochem Biophys Res Commun 298:657-666.
248. Manning S.K., Woodrow C., Zuniga F.A., Iserovich P.,Fischbarg J., Louw A.I., Krishna S., 2002,
Mutational Analysis of the Hexose Transporter of Plasmodium falciparum and Development of a Three-dimensional Model.
J Biol Chem 277:30942–30949.
249. Manolescu A., Salas-Burgos A.M., Fischbarg J., Cheeseman C.I., 2005,
Identification of a hydrophobic residue as a key determinant of fructose transport by the facilitative Hexose transporter SLCC2A7 (GLUT7).
JCB Paperes in Press. Publiziert 26 Sept. 2005, als Manuskript M508678200.
250. Märten S., 2004,
Proteomanalyse der Blut-Hirn-Schranke.
Dissertation an der Technische. Universität Darmstadt.
251. Martinez M., Arnalich F., Vazquez J.J., Hernanz A., 1993,
Altered cerebrospinal fluid amino acid pattern in the anorexia of aging:
relationshipwith biogenic amine metabolism.
Life Sci 53:1643–1650.
252. Martin-Padura I., Lostaglio S., Schneemann M., Williams L., Romano M., Fruscella P., Panzeri C., Stoppacciaro A., Ruco L., Villa A., SimmonsD., Dejana E., 1998,
Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration.
J Cell Biol 142:117-127.
253. Maxwell D.S. und Kruger L., 1965,
Small Blood Vessels and the Origin of Phagocytes in the Rat Cerebral Cortex following heavy Particle Irradiation.
Exp Neurol 12:33-54.
254. Maxwell D.S. und Pease, 1956,
The electron microscopy of the choroid plexus.
J Biophys Biochem Cytol 2:467-474.
255. Maynard E.A., Schultz, R.L. und Pease D.C., 1957,
Electron microscopy of the vascular bed of rat cerebral cortex.
Am. J. Anat., 100:409.

256. McCarthy K.M., Skare I.B., Stankewich M.C., Furuse M., Tsukita S., Rogers R.A., Lynch R. D., Schneeberger E.E., 1996,
Occludin is a functional component of the tight junction.
J C Sci 109: 2287-2298.
257. McVie-Wylie A.J., Lamson D.R., Chen Y.T., 2001,
Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters,
SLC2A10 (GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for
NIDDM susceptibility.
Genomics 72:113–117.
258. Medina R., Rahner C., Mitic L.L., Anderson J.M. Van Itallie C.M., 2000,
Occludin localization at the tight junction requires the second extracellular loop.
J Membr Biol 178:235-247.
259. Millen J.W. und Rogers, 1956;
An electron microscopic study of the chorioid plexus in the rabbit.
J Biophys Biochem Cytol 2:407-416.
260. Miller F.N., Sims D.E., Schuschke D.A., Abney D.L., 1992,
Differentiation of light-dye effects in the microcirculation.
Microvasc Res 44:166–184.
261. Minakawa T., Bready J., Berliner J., Fisher M., Cancilla P.A., 1991,
In vitro interaction of astrocytes and pericytes with capillary-like structures of
brain microvessel endothelium.
Lab Invest 65:32-40.
262. Mingar A. und Alexander J.S., 2003,
Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis.
Multiple Sclerosis Journal 2003; 9: 540- 549.
263. Mitic L.L., van Itallie C.M., J.M. Anderson, 2000,
Molecular Physiology and Pathophysiology of Tight junctions. I. Tight junction
structure and function: lessons from mutant animals and proteins.
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 279:G250-254.
264. Møllgard K. und Saunders, N. R., 1986,
The development of the human blood-brain and blood-CSF barriers.
Neuropathol Appl Neurobiol 12:337–358.
265. Møllgard K., Malinowska D.H., Saunders N.R., 1976,
Lack of correlation between tight junction morphology and permeability
properties in developing choroid plexus.
Nature (London) 264:293-94.

266. Morita K., Furuse M., Fujimoto K., Tsukita S., 1999a,
Claudin multigene family encoding four – transmembrane domain protein
components of tight junction strands in endothelial cells.
Proc Natl Acad Sci USA 96:511:516.
267. Morita K., Sasaki H. Furuse M., Tsukita S., 1999b,
Endothelial claudin: claudin - 5 / TMVCF constitutes tight junction strands in
endothelial cells.
J Cell Biol 147:185-94.
268. Motohashi H., Sakurai Y., Saito H., Masuda S., Urakami Y., Goto M., Fukatsu
A., Ogawa O., Inui K., 2002,
Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in
the human kidney.
J Am Soc Nephrol 13:866-874.
269. Mueckler M. und Makepeace C., 1999,
Transmembrane Segment 5 of the Glut1 Glucose Transporter Is an
Amphipathic Helix That Forms Part of the Sugar Permeation Pathway.
J Biol Chem 274:10923–10926.
270. Mueckler M. und Makepeace C., 2002,
Analysis of Transmembrane Segment 10 of the Glut1 Glucose Transporter by
Cysteine-scanning Mutagenesis and Substituted Cysteine Accessibility.
J Biol Chem 277:3489-3503.
271. Mueckler M. und Makepeace C., 2005,
Cysteine-Scanning Mutagenesis and Substituted Cysteine Accessibility
Analysis of Transmembrane Segment 4 of the Glut1 Glucose Transporter.
J Biol Chem Electronic Publication www.jbc.org/cgi/reprint/m509050200v1.
272. Mueckler M., Caruso C., Baldwin S.A., Panico M., Blench I., Morris H.R., Allard
W.J., Lienhard G.E., Lodish H.F., 1985,
Sequence and structure of human glucose transporter.
Science 229:941–945.
273. Mueckler M., Roach W., Makepeace C., 2004,
Transmembrane Segment 3 of the Glut1 Glucose Transporter Is an Outer Helix.
J Biol Chem 279:46876–46881.
274. Müller J., 2005,
Transport kationischer Arzneistoffe an den Epithelien von Darm und Plazenta.
Dissertation an der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

275. Muller W.A., 2003,
Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response.
Trends Immunol 24: 326–333.
276. Nabeshima S., Reese T.S., Landis D.M., Brightman M.W., 1975,
Junctions in the meninges and marginal glia.
J Comp Neurol 164:127–170.
277. Nagy Z., Peters H. und Hüttner I., 1984,
Fracture faces of cell junctions in cerebral endothelium during normal and hyperosmotic conditions.
Lab. Invest. 50:313-322.
278. Nakano M., Atobe Y., Goris R. C., Yazama F., Ono M., Sawada H., Kadota T., Funakoshi K., Kishida R., 2000,
Ultrastructure of the Capillary Pericytes and the Expression of Smooth Muscle α -actin and Desmin in the Snake Infrared Sensory Organs.
Anatom Rec 260:299–307.
279. Nasdala I., Wolburg-Buchholz K., Wolburg H., Kuhn A., Ebnet K., Brachtendorf G., Samulowitz U., Kuster B., Engelhardt B., Vestweber D., Butz S., 2002,
A transmembrane tight junction protein selectively expressed on endothelial cells and platelets.
J Biol Chem 277:16294-16303.
280. Nehls V. und Drenckhahn D., 1991,
Heterogeneity of Microvascular Pericytes for Smooth Muscle Type Alpha-Actin.
J Cell Biol 113: 147-54.
281. Nehls V., Denzer K., Drenckhahn D., 1992,
Pericyte involvement in capillary sprouting during angiogenesis in situ.
Cell Tissue Res 270:469-474.
282. Netsky M.G. und Shuangshoti S., 1975,
Origin of Choroid Plexus and Ependyma.
In The choroid plexus in health and disease. University Press of Virginia, Charlottesville, S. 3-18.
283. Newman P.J., 1997,
The biology of PECAM-1.
J Clin Invest 99: 3–8.
284. Newman P.J., 1999,
Switched at birth: a new family for PECAM-1.
J Clin Invest 103: 5–9.

285. Nico B., Cantino D., Bertossi M., Ribatti D., Sasso M., Roncali L., 1992,
Tight endothelial junctions in the developing microvasculature- a thin-section
freeze-fracture study in the chick-embryo optic tectum.
J Submicr Cytol Pathol 24:85-95.
286. Nieset J.E., Redfield A.R., Jin F., Knudsen K.A., Johnson K.R., Wheelock M.J.,
1997,
Characterization of the interactions of alpha-catenin with alpha-actinin and beta-
catenin/plakoglobin.
J Cell Sci 110:1013–1022.
287. Nishimura M., Kakizaki M., Ono Y., Morimoto K., Takeuchi M., Inoue Y., Imai T.,
Takai Y., 2002,
JEAP, a Novel Component of Tight Junctions in Exocrine Cells.
J Biol Chem 277:5583-5587.
288. Nitta T., Hata M., Gotoh S., Seo Y., Sasaki H., Hashimoto N., Furuse M.,
Tsukita S., 2003,
Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5–deficient mice.
J Cell Biol 161:653-660.
289. Noe B., Hagenbuch B., Stieger B., Meier P.J., 1997,
Isolation of a multispecific organic anion and cardiac glycoside transporter from
rat brain.
Proc Natl Acad SciUSA 94:10346–10350.
290. O’Kane R.L. und Hawkins R.A., 2003,
Na (+)-dependent transport of large neutral amino acids occurs at the abluminal
membrane of the blood-brain barrier.
Am J Physiol Endocrinol Metab 285:E1167–E1173.
291. O’Kane R.L., Martínez-López I., DeJoseph M.R., Viña J.R., Hawkins R.A.,
1999,
Na(+)-dependent Glutamate Transporters (EAAT1, EAAT2, and EAAT3) of the
Blood-Brain Barrier a mechanism for Glutamate removal.
J Biol Chem 274:31891–31895.
292. O’Kane R.L., Viña J.R., Simpson I., Hawkins R.A, 2004,
Na(+)-dependent neutral amino acid transporters A, ASC, and N of the blood-
brain barrier: mechanisms for neutral amino acid removal.
Am J Physiol Endocrinol Metab 287: E622–E629.
293. O’Rahilly R. und Müller F., 1996,
Embryologie und Teratologie des Menschen.
Hans Huber Verlag, Bern, 1999: S.204.

294. Oexender D.L. und Christensen H.N., 1963,
Distinct mediating systems for the transport of neutral amino acids by the Ehrlich cell.
J Biol Chem 238:3686-3699.
295. Ohnishi H., Nakahara T., Furuse K., Sasaki H., Tsukita S., Furuse M., 2004,
JACOP, a novel plaque protein localizing at the apical junctional complex with sequence similarity to cingulin.
J Biol Chem 279:46014-46022.
296. Oldendorf W.H., 1971 a,
Brain uptake of radiolabeled amino acids, amines and hexoses after arterial injection.
Am J Physiol 221:1629-39.
297. Oldendorf W.H., 1971b,
Uptake of radiolabeled essential amino acids by brain following arterial injection.
Proc Soc Exp Biol Med 136: 385–386.
298. Oldendorf W.H. and Szabo J., 1976,
Amino acid assignment to one of three blood-brain barrier amino acid carriers.
Am J Physiol 230: 94–98.
299. Orlidge A. und D'Amore P. A., 1987,
Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells.
J Cell Biol 105:1455–1462.
300. Palmeri D, van Zante A., Huang C.C., Hemmerich S., Rosen S.D., 2000,
Vascular endothelial junction – associated molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily, is localized to intercellular boundaries of endothelial cells.
J Biol Chem 275:19139-19145.
301. Pappas G.D. und Tennyson V.M., 1962,
An electron microscopic study of the passage of colloidal particles from the blood vessels of the ciliary processes and choroid plexus of the rabbit.
J Cell Biol 15:227-239.
302. Pardridge W.M. 1977,
Regulation of amino acid availability to the brain.
Nutr Br 1: 141–205.
303. Pardridge W.M., 1986,
Blood-brain transport of nutrients. Introduction.
Fed Proc 45:2047-2049.

304. Pardridge W.M., 1991,
Advances in cell biology of blood-brain barrier transport.
Semin Cell Biol 2:419-426.
305. Pardridge W.M., 1993,
Brain drug delivery and blood-brain barrier transport.
Drug Delivery 1:83-101.
306. Pardridge W.M., 1997,
Microvascular and Astrocyte Localization of P-Glycoprotein.
J Neurochem 68:1278-1285.
307. Pardridge W.M., 1998,
CNS Drug Design Based on Principles of Blood-Brain Barrier Transport. J.
Neurochem. 70:1781-92.
308. Pardridge W.M., 2001a,
Brain Drug Targeting: The Future of Brain Drug Development.
Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
309. Pardridge W.M., 2001b,
Brain Drug Targeting and Gene Technology.
Jpn. J. Pharmacol 87:97-103.
310. Pardridge W.M., 2001c,
BBB-genomics: Creating new openings for brain-drug targeting.
Drug Discov Today 6:381–383.
311. Pardridge W.M., 2003,
Blood-Brain Barrier Drug Targeting: The Future of Brain Drug Development.
Molecular interventions Vol. 3, 2:90-105.
312. Pardridge W.M., Boado R.B., Farrell R., 1990,
Brain-type Glucose Transporter (Glut-1) Is selectively Localized to the Blood-
Brain-Barrier.
J Biol Chem 265:18035-18040.
313. Patan S., Haenni B., Burri P.H., 1996,
Implementation of intussusceptive microvascular growth in the chicken
chorioallantoic membrane (CAM): 1. pillar formation by folding of the capillary
wall.
Microvasc Res 51:80-98.
314. Petrides E.P., 1998,
Blut-Hirn-Schranke und Liquor cerebrospinalis.
In Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie Ausg. 6, Springer-Verlag,
Berlin Heidelberg New York, S. 973-975.

315. Phay J.E., Hussain H.B., Moley J.F., 2000,
Cloning and expression analysis of a novel member of the facilitative glucose transporter family, SLC2A9 (GLUT9).
Genomics 66: 217–220.
316. Pineda M, Fernandez E., Torrents E, Estvez R., Lopez C., Camps M., Lloberas J., Zorzano A., Palacin M., 1999,
Identification of a membrane protein, LAT2, that co-expresses with 4F2 heavy chain, an L-type amino acid transport activity with broad specificity for small and large zwitterionic amino acids.
J Biol Chem 274:19738–19744.
317. Plate K.H., Breier G., Weich H.A. und Risau W., 1992,
Vascular endothelial growth – factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo.
Nature 359:845-848.
318. Pohl, 1881,
zitiert nach Ehrlich, 1902
319. Poole T.J. und Coffin J.D., 1988,
Developmental angiogenesis: quail embryonic vasculature.
Sanning Microsc 2:443-448.
320. Powell D.W., 1981,
Barrier function of epithelia.
Am J Physiol 241:G275–G288.
321. Preston J.E., 2001,
Ageing Choroid Plexus-Cerebrospinal Fluid System.
Microsc Res Tech 52:31–37.
322. Psathaki O.E., 2003,
Die Analyse der Endothelzell-Leukozyten-Interaktion an der Blut-Hirn-Schranke in vitro: Eine morphologische, biophysikalische und immunozytochemische Studie.
Dissertation an der westfälischen Wilhelms-Universität Münster.
323. Ramsauer M., Krause D., Dermietzel R., 2002,
Angiogenesis of the blood-brain barrier in vitro and the function of cerebral pericytes.
FASEB J 16:1274–76.

324. Rao V.V., Dahlheimer J.L., Bardgett M.E., Snyder A.Z., Finch R.A., Sartorelli, Piwnica-Worms D., 1999,
Choroid plexus epithelial expression of MDR1 P glycoprotein and multidrug resistance-associated protein contribute to the blood–cerebrospinal-fluid drug-permeability barrier.
Proc Natl Acad Sci USA 96:3900–3905.
325. Rapoport S.I., 1976,
Blood-Brain Barrier in Physiology and Medicine.
Raven Press New York.
326. Rascher G. und Wolburg H., 1997,
The tight junctions of the leptomeningeal blood-cerebrospinal fluid barrier during development.
J Brain Res 38:525–540.
327. Reed D.J., 1980,
Drug transport into the central nervous system. In: Glaser G.H., Pentry J.K., Woodbury D.M.: Antiepileptic drugs: mechanisms of action.
N Y Raven Press 199-205.
328. Reese T.S. und Karnovsky M.J., 1967,
Fine structural localization of a blood- brain barrier to exogenous peroxidase.
J Cell Biol 34:207-217.
329. Reichel A., Begley D.J., Ermisch A., 1996,
A Reduction in the Transfer of Amino Acids across the Blood-Brain Barrier Might Not Be the Sole Mechanism by Which Vasopressin Affects Amino Acid Levels within the Brain. In Biology and Physiology of the Blood-Brain Barrier. ed. Courand and Scherman; Plenum Press New York 1996, S.21-26.
330. Rhodin J.A.G., 1968,
Ultrastructure of Mammalian Venous Capillaries, Venules, and Small collecting Veins.
J Ultrastruc Res 25:452-500.
331. Risau W. und Wolburg H., 1990,
Developement of the blood -brain barrier.
Trends Neurosci. 13:174-178.
332. Risau W., 1991,
Vasculogenesis, angiogenesis and endothelial cell during embryonic developement.
In the developement of the vascular system. editors R.N. Feinberg, G.K. Sherer und R. Auerbach,. Karger, Basel. S. 58-68.

333. Risau W., 1997,
Mechanisms of angiogenesis.
Nature 386:671–674.
334. Risau W., Hallman R., Albrecht U. und Henke-Fahle S., 1986,
Brain induces the expression of an early cell surface marker for blood-brain
barrier specific endothelium.
EMBO J. 5:3179-3183.
335. Robertson P.L., Du Bois M., Bowman P.D. und Goldstein G.W., 1985,
Angiogenesis in developing rat brain: an in vivo and in vitro study.
Dev. Brain Res. 23: 219-223.
336. Rogers S., James D.E., Best J.D., 1998,
Identification of novel facilitative transporter like protein-GLUT8 .
Diabetes 47, Suppl 1: A45.
337. Rogers S., Macheda M.L., Docherty S.E., Carty M.D., Henderson M.A, Soeller
W.C, Gibbs E.M., James D.E., Best J.D., 2002,
Identification of a novel glucose transporter-like protein GLUT-12.
Am J Physiol Endocrinol Metab 282:E733–E738.
338. Rouget C., 1873,
Mémoire sur le développement, la structure et les propriétés physiologiques des
capillaires sanguins et lymphatiques.
Arch Physiol Norm Pathol 5:603-663.
339. Rubin L.L. und Staddon J.M., 1999,
The cellbiology of the blood-brain barrier.
Ann. Rev. Neurosci.22:11-28.
340. Rubin L.L., Hall D.E., Porter S., Barbu K., Cannon C., Horner H.C., Janatpour
M., Liaw C.W., Manning K., Morales J., Tanner L.I., Tomaselli K.J., Bard F.,
1991,
A cell culture model of the blood-brain–barrier.
J Cell Biol 115: 1725-1735.
341. Rucker H.K., Wynder H.J., Thomas W.E., 2000,
Cellular mechanisms of CNS pericytes.
Brain Res. Bull. 51: 363–369.
342. Saitou M., Furuse M., Sasaki H., Schulzke J.-D., Fromm M., Takano H., Noda
T., Tsukita S., 2000,
Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction
strands.
Mol Biol Cell 11: 4131-4142.

343. Sakakibara A., Furuse M., Saitou M., Ando-Akatsuka Y., Tsukita S., 1997,
Possible involvement of phosphorylation of occludin in tight junction formation.
J Cell Biol 137:1393-1401.
344. Salas-Burgos A., Iserovich P., Zuniga F., Vera J.C., Fischbarg J., 2004,
Predicting the three-dimensional structure of the human facilitative glucose
transporter glut1 by a novel evolutionary homology strategy: insights on the
molecular mechanism of substrate migration, and binding sites for glucose and
inhibitory.
Biophys J 87:2990-2999.
345. Sánchez del Pino M.M., Hawkins R.A., Peterson D.R., 1992,
Neutral amino acid transport by the blood-brain barrier: membrane vesicle
studies.
J Biol Chem 267:25951–25957.
346. Sánchez del Pino M.M., Hawkins R.A., Peterson D.R., 1995a,
Biochemical Discrimination between Luminal and Abluminal Enzyme and
Transport Activities of the Blood-Brain Barrier.
J Biol Chem 270:14907-14912.
347. Sánchez del Pino M.M., Peterson D.R., Hawkins R.A., 1995b,
Neutral amino acid transport characterization of isolated luminal and abluminal
membranes of the blood-brain barrier. J Biol Chem 270:14913–14918.
348. Sarnat H.B., 1998,
Histochemistry and Immunocytochemistry of the Developing Ependyma and
Choroid Plexus.
Microsc Res Tech 41:14–28.
349. Sato M. und Mueckler M., 1999,
A Conserved Amino Acid Motif (R-X-G-R-R) in the Glut1 Glucose Transporter Is
an Important Determinant of Membrane Topology.
J Biol Chem 274:24721–24725.
350. Saunders N.R., Habegood M.D., Dziegielewska K.M., 1999,
Barrier mechanisms in the brain, I. Adult brain.
Clin Exp Pharmacol Physiol 26:11-9.
351. Scheepers A., Doege H., Joost H.G., Schurmann A., 2001,
Mouse GLUT8: genomic organization and regulation of expression in 3T3-L1
adipocytes by glucose.
Biochem Biophys Res Commun 288:969-974.
352. Schilling T., Lehmann F., Ruckert B., Eder C., 2004,
Physiological mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced de-ramification
of murine microglia.
J Physiol 557:105-120.

353. Schindler T., 2003,
Untersuchungen zur differentialdiagnostischen Bedeutung des IgG- Index und Albuminquotienten bei neurologisch erkrankten Hunden.
Dissertation an der Tierärztlichen Fakultät der LMU München.
354. Schinkel A.H., Wagenaar E., Mol C.A., van Deemter L., 1996,
P-Glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs.
J Clin Invest 97:2517-2524.
355. Schlingemann R.O., Rietveld F.J.R., Kwaspen F., van de Kerkhof P.C.M., de Wall R.M.W., Ruiter D.J., 1991,
Differential expression of markers for endothelial cells, pericytes, and basal lamina in the microvasculature of tumors and granulation tissue.
Am J Pathol 138:1335–1347.
356. Schnürch, H. und Risau, W., 1991,
Differentiating of mature neuron express the acid fibroblast growth- factor gene during chick neural development.
Development 111:1143-1154
357. Schor A.M., Canfield A.E., Sutton A.B., Areiniegas E., Allen TD., 1995,
Pericyte differentiation.
Clin Orthop 313: 81–91.
358. Schröder B.; Diener M., 2000,
Grundlagen der Zellphysiologie.
In Engelhardt und Breves; Physiologie der Haustiere; Enke Verlag 2000; S.12.
359. Schultz R.L., Maynard, E.A. und Pease D. C., 1957,
Electron microscopy of neurons and neuroglia of cerebral cortex and corpus callosum.
Am. J. Anat., 100:369.
360. Schulze C. und Firth J. A., 1992,
Interendothelial junctions during blood-brain barrier development in the rat morphological changes at the level of individual tight junctional contacts.
Dev. Brain Res. 69:85-95.
361. Schulze C., Smales C., Rubin L.L., Staddon J.M., 1997,
Lysophosphatidic acid increases tight junction permeability in cultured brain endothelial cells.
J Neurochem 68:991-1000.
362. Segawa H., Fukasawa Y., Miyamoto K., Takeda E., Endou H., Kanai Y., 1999,
Identification and Functional Characterization of a Na- independent Neutral Amino Acid Transporter with Broad Substrate Selectivity.
J Biol Chem 274:19745–19751.

363. Seigneuret M. und Garnier-Suillerot A., 2003,
A structural model for the open conformation of the mdr1 P-glycoprotein based on the MsbA crystal structure.
J Biol Chem 278:30115–30124.
364. Sekine T., Cha S.H., Endou H, 2000,
The multispecific organic anion transporter (OAT) family.
Pfluegers Arch 89:337–344.
365. Senger D.R., Galli S.J., Dvorak A.M., Perruzzi C.A., Harevey V.S. und Dvorak H.F., 1983,
Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid.
Science 219:983-985.
366. Serot J.M., Foliguet B., Béné M.C. Gilbert C. Faure G.C., 2001,
Choroid plexus and ageing in rats: a morphometric and ultrastructural study.
Europ J Neurosci 14:794-798.
367. Shepro D., Morel N., 1993,
Pericyte physiology.
FASEB J 7:1031–1038.
368. Shi Q., Rafii S., Wu M.H.-D., Wijelath E.S., Yu C., Ishida A., Fujita Y., Kothari s., Mohle R., Sauvage L.R., Moore M.A.S., Storb R.F., Hammond W.P.; 1998,
Evidence for circulating bone marrow- derived endothelial cells.
Blood 92: 362-367.
369. Shimada T., Kitamura H., Nakamura M., 1992,
Three-dimensional architecture of pericytes with special reference to their topographical relationship to microvascular beds.
Arch Histol Cytol 55(Suppl):77-85.
370. Shinkaruk S.; Bayle M.; Lain G.; Deleris G., 2003,
Vascular Endothelial Cell Growth Factor (VEGF), An Emerging Target for Cancer Chemotherapy.
Curr Med Chem Anti-Canc Agents 3: 95-123.
371. Shivers R.R., 1979a,
The blood-brain barrier of a reptile, *Anolis carolinensis*. A freeze-fracture study.
Brain Res 169:221-230.
372. Shivers R.R., 1979b,
The effect of hyperglycemia on brain capillary permeability in the lizard, *Anolis carolinensis*: a freeze–fracture analysis of blood- brain barrier pathology.
Brain Res 170: 509-522.

373. Simpson I.A., Vannucci S.J., DeJosephi M.R., Hawkins R.A., 2001,
Glucose Transporter Asymmetries in the Bovine Blood-Brain Barrier.
J Biol Chem 276:12725–12729.
374. Sims D.E., 1991,
Recent advances in pericyte biology-implications for health and diseases.
Can J Cardiol 7:431–443.
375. Sims D.E., 2000,
Diversity within pericytes.
Clin Exp Pharmacol Physiol 27: 842–846.
376. Sims D.E., Miller F.N., Donald A., Perricone M.A., 1990,
Ultrastructure of pericytes in early stages of histamine-induced inflammation.
J Morph 206: 333–342.
377. Sinowatz F., 1992,
Histologische Technik und Mikroskopie. In: Hees H., Sinowatz F., Kurzlehrbuch
der Zytologie und mikroskopischen Anatomie.
2. Auflage, Dt. Ärzte-Verlag GmbH Köln, 9-28.
378. Smith Q.R., 1992,
Methods of Study.
In Physiology and Pharmacology of the Blood-Brain Barrier. Edited by M.
Bradbury. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1992 Chap 2:23-52.
379. Smith Q.R., 2000,
Transport of glutamate and other amino acids at the blood-brain barrier.
J Nutr 130, 1016S-1022S.
380. Smith Q.R. und Stoll J., 1998,
Blood-brain barrier amino acid transport.
In Introduction to the Blood-Brain Barrier: Methodology, Biology, and Pathology,
edited by Pardridge WM. Cambridge: Cambridge University Press, 1998, S.
188–197.
381. Spatz H., 1933,
Die Bedeutung der vitalen Färbung für die Lehre vom Stoffaustausch zwischen
dem Zentralnervensystem und dem übrigen Körper.
Arch Psychiatr Nervenkr 101, S. 267-358.
382. Spatz M., Stanimirovic D., McCarron R.M., 1995,
Endothelin as a mediator of blood-brain barrier function.
In New Concepts of a Blood-Brain Barrier. Edited by J. Greenwood et al.
Plenum Press, New York, 1995, S. 47-61.

383. Spector R., 2000,
Drug Transport in the Mammalian Central Nervous System: Multiple Complex Systems.
Pharmacology 60:58-73.
384. Spector R. und Johanson C.E., 1989,
The mammalian choroid plexus.
Sci Am 261: 68-74.
385. Staehlin L.A., 1973,
Further observations on the fine structure of freeze-cleaved tight junction.
J Cell Sci 13:763-786.
386. Stenham D.R., Campbell J.D., Sansom M.S.P., Higgins C.F., Kerr I.D., Linton K.J., 2003,
An atomic detail model for the human ATP-binding cassette transporter P-glycoprotein derived from disulfide cross-linking and homology modeling.
FASEB J 17:2287–2289
387. Stern L. und Gautier R., 1921,
Rapports entre le liquide céphalorachdien et la circulation sanguine.
Arch Int Physiol, 17:138-192.
388. Stern L. und Gautier R., 1922,
Les rapports entre le liquide céphalorachdien et les éléments nerveux de l'axe cérébrospinal.
Arch Int Physiol 17:391-408.
389. Stevenson B.R., Siliciano J.D., Mooseker M.S., Goodenough D.A., 1986,
Identification of ZO-1: a high molecular weight poly peptide associated with the tight junction (zonula occludens) in a variety of epithelia.
J Cell Biol 103:755-66.
390. Stewart, P. A. und Hayakawa, E. M., 1987.
Interendothelial junctional changes underlie the developemental 'tightening' of the blood brain barrier.
Dev. Brain Res. 32:271-281.
391. Stewart P. A. und Hayakawa K., 1994,
Early structural changes in blood–brain barrier vessels of the rat embryo.
Dev. Brain Res. 78:25–34.
392. Stewart, P.A. und Wiley, M. J., 1981,
Developing nervous tissue induces formation of blood-brain barrier characteristics in invading endothelial cells: A study using quail-chick transplantation chimeras.
Dev. Biol. 84:183-192.

393. Strazielle N., Ghersi-Egea J.F., 2000,
Implication of blood-brain barrier interfaces in cerebral drug metabolism and drug metabolite disposition.
In Molecular drug metabolism and toxicology, chap. 12 (G.M. Williams and O.I. Aruoma, eds.) OICA International, London, S.181-200.
394. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L., 2002,
Biochemistry. Fifth edition, W. H. Freeman and Company, New York.
395. Suzuki H., Terasaki T., Sugiyama Y., 1997,
Role of efflux transport across the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barrier on the disposition of xenobiotics in the central nervous system.
Adv Drug Deliv Rev 25:257-285.
396. Tamai I. und Tsuji A., 2000,
Transporter-mediated permeation of drugs across the blood-brain barrier.
J PharmSci 89:1371-1388.
397. Tamai I., Yabuuchi H, Nezu J., Sai Y., Oku A., Shimane M., Tsuji A., 1997,
Cloning and characterization of a novel human pH-dependent organic cation transporter, OCTN1.
FEBS Lett 419, 107-111.
398. Tamai I., Ohashi R., Nezu J., Yabuuchi H., Oku A., Shimane M., Sai Y., Tsuji A., 1998,
Molecular and functional identification of sodium ion independent, high affinity human carnitine transporter OCTN2.
J Biol Chem 273:20378–20382.
399. Tani E., Itagaki T., Nakano M., 1977a,
Tight junctions of oligodendrocytes.
Cell Tissue Res 184:139-142.
400. Tani E., Yamagata S., Ito Y., 1977b,
Freeze-fracture of capillary endothelium in rat brain.
Cell Tissue Res 176:157-165.
401. Tartaglia L.A. und Weng X., 1999,
Nucleic acid molecules encoding GLUTX and uses thereof.
US Patent No. 5: 942, 398.
402. Tavarani I., Cloez I., Bourre J.M., 1989,
Antioxidant enzymes and related trace elements in aging brain capillaries and choroid plexus.
J. Neurochem. 53:817-24.

403. Tayarani I., Lefauconnier J.M., Roux F., Bourrer J.M., 1987,
Evidence for alanine, serine, and cystine system of transport in isolated brain capillaries.
J Cerebr Blood Flow Metab 7:585–591.
404. Tennyson V.M., 1975,
Ultrastructural Characteristics of the Telencephalic and Myelencephalic Choroid Plexus in Fetus of Man and Rabbit, and a Comparsion with the Adult Choroid Plexus in Rabbit.
In The choroid plexus in health and disease. University Press of Virgina, Charlottesville, S. 36-71.
405. Tennyson V.M. und Pappas G.D., 1964,
Fine structure of the developing telencephalic and myelencephalic choroid plexus in the rabbit.
J Comp Neurol 23:379-411.
406. Tennyson V.M. und Pappas G.D., 1968,
The fine structure of the choroid plexus: Adult and developmental stages.
Prog Brain Res 29:63-85.
407. Terasaki T., Ohtsuki S., Hori S., Takanaga H., Nakashima E., Hosoya K., 2003,
New approaches to in vitro models of blood-brain barrier drug transport.
Drug Discov Today 8:944-954.
408. Thurston G., Murphy T.J., Baluk P., Lindsey J.R., McDonald D.M., 1998,
Angiogenesis in Mice with Chronic Airway Inflammation Strain-Dependent Differences.
Am J Pathol 153:1099–1112.
409. Tovar A., Tews J.K., Torres N., Harper A.E., 1988,
Some characteristics of the threonine transport across the blood-brain barrier of the rat.
J Neurochem 51:1285–1293.
410. Traweger A., Fuchs R., Krizbai I. A., Weiger T. M., Bauer H.-Chr., Bauer H., 2002,
The Tight Junction Protein ZO-2 Localizes to the Nucleus and Interacts with the Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein Scaffold Attachment Factor-B.
J Biol Ch 278:2692-2700.
411. Tsukita S. und Furuse M., 1999,
Occludin and claudins in tight – junction strands: leading or supporting players?
Trends Cell Biol 9:268-273.

412. Tsukita S. und Furuse M., 2000,
Pores in the Wall: Claudins Constitute Tight Junction Strands Containing Aqueous Pores.
J. Cell Biol. 149: 13-16.
413. Tsukita S., Furuse M., Itoh M., 2001,
Multifunctional strands in tight junctions.
Nat Rev Mol Cell Biol 2:285-293.
414. Tsuzuki H. und Sasa S., 1994,
Ultrastructural observation of capillary sprouts in the dental organs of rat molars.
Kaibogaku Zasshi 69:684-696.
415. Uldry M. und Thorens B., 2004,
The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters.
Pflugers Arch 447:480-489.
416. Uldry M., Ibberson M., Riederer B., Chatton J.Y., Horisberger J.D., Thorens B., 2001,
Identification of a novel H⁺-myoinositol symporter expressed predominantly in the brain.
EMBOJ 20:4467–4477.
417. Uldry M., Steiner P., Zurich M.-G., Béguin P., Hirling H., Dolci W., Thorens B., 2004,
Regulated exocytosis of an H⁺/myo-inositol symporter at synapses and growth.
EMBO J 23:531–540.
418. Van Bremen V.L. und Clemente C.D., 1955,
Silver deposition in the central nervous system and the hematoencephalic barrier studied with the electron microscope.
J Biophys Biochem Cytol 1:161-166.
419. Van Deurs B. und Koehler J.K., 1979,
Tight junctions in the choroid plexus epithelium. A freeze-fracture study including complementary replicas.
J. Cell Biol. 80:662–673.
420. Van Groningen J.P., Wenink A.C.G., Testers L.H.M., 1991,
Myocardial capillaries: increase in number by splitting of existing vessels.
Anat. Embryol. 184:65-70.
421. Van Meer G. und Simons K., 1986,
The function of tight junction in maintaining differences in lipid composition between the apical and the basolateral cell surface domains of MDCK cells.
EMBO J. 5:1455-1464.

422. Vandenabeele F., Creemers J., Lambrichts I., 1996,
Ultrastructure of the human spinal arachnoid mater and dura mater.
J Anat 189:417-430.
423. Vleminckx K. und Kemler R., 1999,
Cadherins and tissue formation: integrating adhesion and signaling.
Bioessays 21:211–220.
424. Vlodavsky I., Folkman J., Sullivan R., Fridman R., Ishai- Michaeli R., Sass, J.
und Klagsbrun, M., 1987,
Endothelial cell-derived basic fibroblast growth factor: Synthesis and deposition
into subendothelial extracellular matrix.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:2292 -2296.
425. Vorbrodt A.W. und Dobrogowska D.H., 2003,
Molecular anatomy of intercellular junctions in brain endothelial and epithelial
barriers: electron microscopist's view.
Brain Research Reviews 42:221–242.
426. Voura E.B., Chen N., Chi-Hung S., 2000
Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1(CD31)redistributes from
endothelial junction and is not required for the transendothelial migration of
melanoma cells.
Clin Exp Metastasis 18:527-532.
427. Walter F.K., 1933,
Die allgemeinen Grundlagen des Stoffaustausches zwischen dem
Zentralnervensystem und dem übrigen Körper.
Arch Psychiatr Nervenkr 101:195-230.
428. Wang H., Kavanaugh M.P., North R.A., Kabat D., 1991,
Cell-surface receptor for ecotropic murine retroviruses is a basic amino-acid
transporter.
Nature 352:729-731.
429. Wang W., Merrill M.J., Borchardt R.T., 1996,
Vascular endothelial growth factor affects permeability of brain microvessel
endothelial cells in vitro.
Am J Physiol 271: C1973– C1980.
430. Wang W., Dentler W.L., Borchardt R.T., 2001,
VEGF increases BMEC monolayer permeability by affecting occludin
expression and tight junction assembly.
Am J Physiol Heart Circ Physiol 280: H434-140.

431. Watson P.M., Anderson J.M., Van Itallie C.M., Doctrow S.R., 1991,
The tight-junction-specific protein ZO-1 is a component of the human and rat
blood-brain barriers.
Neurosci Lett 129:6-10.
432. Wegener J, Galla H.J., 1996,
The role of non-lamellar lipid structures in the formation of tight junctions. Chem
Phys Lipids 81: 229-255.
433. Wegener J., Sieber M. und Galla H.J., 1996,
Impedance analysis of epithelial cell monolayers cultured on gold surfaces.
J Biochem Biophys Methods 32:151-170.
434. Welsch U., 2003,
Lehrbuch Histologie In Sobota Histologie Zytologie Mikroskopische Anatomie:
Kreislauforgane Urban & Fischer Verlag , München Jena, Kap. 5 :219-23.
435. Wijnholds J., de Lange E.C.M., Scheffer G.L., van den Berg D.-J., Mol C.A.M.,
van der Valk M., Schinkel A.H., Scheper R.J., Breimer D.D., Borst P., 2000,
Multidrug resistance protein 1 protects the choroid plexus epithelium and
contributes to the blood-cerebrospinal fluid barrier.
J Clin Invest 105:279–285.
436. Wolburg H. und Lippoldt A., 2002,
Tight junctions of the blood brain barrier Development, composition and
regulation.
Vascular Pharmacology 38:323-337.
437. Wolburg H., Neuhaus J., Kiesel U., Krauß B., Schmid E.-M., Öcalan M.,
Farrell, C., Risau, W., 1994,
Modulation of tight junction structure in blood-brain barrier endothelial cells.
Effects of tissue culture, second messengers and cocultured astrocytes.
J Cell Sci 107:1347-57.
438. Wong V., Gumbiner B.M., 1997,
A synthetic peptide corresponding to the extracellular domain of occludin
perturbs the tight junction permeability barrier.
J Cell Biol 136:399-409.
439. Wood I. S. und Trayhurn P., 2003,
Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport
proteins
Brit J Nutr 89:3–9.

440. Wu X., Kekuda R., Huang W., Fei Y.-J., Leibach F.H., Chen J., Conway S.J., Ganapathy V., 1998a,
Identity of the organic cation transporter OCT3 as the extraneuronal monoamine transporter (uptake2) and evidence for the expression of the transporter in the brain.
J Biol Chem 273:32776–32786.
441. Wu X., Prasad P.D., Leibach F.H., Ganapathy V., 1998b,
cDNA sequence, transport function, and genomic organization of human OCTN2, a new member of the organic cation transporter family.
Biochem Biophys Res Commun 246:589-595.
442. Wu X., Li W., Sharma V., Godzik A., Freeze H.H., 2002,
Cloning and characterization of glucose transporter 11, a novel sugar transporter that is alternatively spliced in various tissues.
Mol Gen Metab 76:37–45.
443. Wurtman R.J., Chou C., Rose C., 1970,
The fate of ¹⁴C-dihydroxyphenylalanine (¹⁴C-dopa) in the whole mouse.
J Pharmacol Exp Ther 174:351-56.
Yoshida, Y., Yamada, M., Wakabayashi, K. und Ikuata, F., 1988,
Endothelial fenestrae in the rat fetal cerebrum.
Dev. Brain Res. 44: 211-219.
444. Wycoff R.W.G und Young J.Z., 1956,
The motoneuron surface.
Am J Physiol 144:440-448.
445. Xia L., Zhuome L., Lo T.C.Y., 1993,
Transcripts for the High and Low Affinity Hexose Transporters in Rat Myoblasts.
J Biol Chem 268:23258-23266.
446. Yabuuchi H, Tamai I., Nezu J., Sakamoto K., Oku A., Shimane M., Sai Y., Tsuji A., 1999,
Novel membrane transporter OCTN1 mediates multispecific, bidirectional, and pH-dependent transport of organic cations.
J Pharmacol Exp Ther 289:768-773.
447. Yamagishi S., Takeuchi M., Matsui T., Inagaki Y., Nakamaru K., Imaizumi T., Inoue H., 2005,
Angiotensin II augments advanced glycation end product-induced pericyte apoptosis through RAGE overexpression.
FEBS Letters 579: 4265-4270.

448. Yoshida Y., Yamada M., Wakabayashi K., Ikuata F., 1988,
Endothelial fenestrae in the rat fetal cerebrum.
Dev Brain Res 44:211-219.
449. Zenker D., 2001,
Etablierung, Charakterisierung und Anwendung eines in vitro Zellkulturmodells
der Blut-Hirn-Schranke.
Dissertation an der Johann Wolfgang von Goethe-Universität Frankfurt a.M.
Fachbereich Biochemie, Pharmazie und Lebensmittelchemie.
450. Zhong Y.T., Saitoh T., Minase T., Sawada N., Enomoto K., Mori M., 1993,
Monoclonal antibody 7H6 reacts with a novel tight junction-associated protein
distinct from ZO-1, cingulin and ZO-2.
J Cell Biol 120:477–483.
451. Zilberberg L., Shinkaruk S., Lequin O., Rousseau B., Hagedorn M., Costa F.,
Caronzolo D., Balke M., Canron X., Convert O., Lai'n G., Gionnet K.,
Goncalve`s M., Bayle M., Bello L., Chassaing G., Deleris G., Bikfalvi A., 2003,
Structure and Inhibitory Effects on Angiogenesis and Tumor Development of a
New Vascular Endothelial Growth Inhibitor.
J Biol Chem 278:35564-35573.
452. Zimmermann K., 1923,
Der Feinere Bau der Blutcapillaren.
A Anat Entwicklungsgesch 68:29-109.
453. Zuniga F.A., Shi G., Haller J.F., Rubashkin A., Flynn D.R., Iserovich P.,
Fischbarg J., 2001,
A Three-dimensional Model of the Human Facilitative Glucose Transporter
Glut1.
J Biol Chem 276:44970-44975.

Danksagung

Mein Dank, am Ende dieser Arbeit gilt Herrn Privatdozent Dr. Sven Reese, für die Überlassung dieses Themas, die gewährte Unterstützung und Beratung. Frau Dr. Berg für die Korrekturen, Motivation und Bereitstellung einiger Equipements.

Für Motivation, Anregungen, Korrekturen, Essen und Trinken und vieles mehr meiner Freundin.

Meinen Eltern, die mich finanziell unterstützten.

Allen Freunden und Kommilitonen, die mich in der Zeit des Studiums und während der Anfertigung der Dissertation unterstützt haben.